



Log Out Work Files Saved Searches My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Derwent Help

The Delphion Integrated View: INPADOC Record

Get Now: PDF | More choices...

View: Jump to:

Go to:

Tools: Add to Work File: Create new Work File Add

Email this to a friend

>Title:

CN1450173A: SARS related coronal virus total genom chip and use thereof

Derwent Title:

A total genome gene chip useful for diagnosing coronary virus related to SARS disease

Derwent Record

Country:

CN China

Kind:

A Unexamined APPUC, open to Public Inspection

Inventor:

XIAO-YUUE WU; China

XIN MA; China

LUFENG REN; China

BENYUAN ZHENG-YANG GENE TECHNOLOGY CO., LTD. China

News, Profiles, Stocks and More about this company

Published / Filed:

2003-10-22 / 2003-04-25

Application

CN2003000122953

Number:

C12Q 1/16B: C12N 15/11; C12N 7/01; C07H 21/04;

IPC Code:

None

ECLA Code:

None

Priority Number:

2003-04-25 CN2003000122953

Abstract:

The present invention relates to a total genom gene chip for diagnosing coronary virus related to SARS disease, and provides a new primer for obtaining high detection rate. Said total genom gene chip includes detection monitoring system (A) and disease diagnosis system, and can accurately and quickly detect the coronary virus related to SARS, and can shorten the diagnosis time. Said invention is special applicable to living body detection of quarantine office, hospital clinical sample, biological environment virus pollution monitoring, controlling propagation of the disease after patient discharge, and establishment of said virus gene bank and tracking



High
Resolution

animal source of said SARS coronary virus, and has the important action.

Family:

PDF	Publication	Pub. Date	Filed	Title
<input checked="" type="checkbox"/>	CN1450773A	2003-10-22	2003-04-25	SARS related coronal virus total genom chip and use thereof

1 family members shown above

Other Abstract

DERABS.C2004-0831768



Nominate this for the Gallery

THOMSON

[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact Us](#) | [Help](#)

Copyright © 1997-2005 The Thomson Corporation

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03122953.0

[51] Int. Cl?

C12Q 1/68

C12N 15/11 C12N 7/01

C07H 21/04

[43] 公开日 2003 年 10 月 22 日

[11] 公开号 CN 1450173A

[22] 申请日 2003.4.25 [21] 申请号 03122953.0

[71] 申请人 本元正阳基因技术股份有限公司

地址 100176 北京市经济技术开发区永昌中
路 6 号

[72] 发明人 吴小岳 马 燕 任鲁凤 董小岩

权利要求书 1 页 说明书 24 页 附图 1 页

[54] 发明名称 与 SARS 相关的冠状病毒全基因组
芯片及其用途

[57] 摘要

本发明涉及用于急性传染性疾病 SARS 相关冠状病毒诊断的全基因组基因芯片，并提供了用于诊断其它有经济价值的动物冠状病毒基因芯片的高检出率的新引物。该全基因组基因芯片包括检测监控系统(A)和疾病诊断系统(B)两个系统，可准确、快速检测 SARS 相关冠状病毒，并设有检测监控系统，诊断时间更短，且大大提高诊断准确性。本发明的 SARS 冠状病毒全基因组芯片尤其适用于检疫局的生物体检测、医院临床样本，生物环境病毒污染监控、病人出院后疾病的传播及人群中 SARS 冠状病毒基因组水平的微小变化规律及基因多样性数据库的建立，特别对追踪 SARS 冠状病毒的动物来源都将具有十分深远的重要意义。本发明特别应用于诊断领域。

1. 本发明描述了一种基因芯片，其特征是固定在基片上的探针矩阵覆盖了 SARS 冠状病毒的全基因组序列。
2. 权利要求 1 所述的 SARS 冠状病毒的全基因组序列是指 GenBank 已公布的 SARS 冠状病毒株或亚型的全基因组序列。
3. 权利要求 2 中所述的 SARS 冠状病毒株或亚型包括 SARS coronavirus TOR2 (GenBank 序列号: NC_004718/AY274119), SARS coronavirus HKU-39849 (GenBank 序列号: AY278491), SARS coronavirus CUHK-W1 (GenBank 序列号: AY278554), SARS coronavirus Urbani (GenBank 序列号: AY278741), SARS coronavirus BJ01 (GenBank 序列号: AY278488), SARS coronavirus BJ02 (GenBank 序列号: AY278487), SARS coronavirus BJ03 (GenBank 序列号: AY278490), SARS coronavirus BJ04 (GenBank 序列号: AY279354), SARS coronavirus GZ01 (GenBank 序列号: AY278489)。
4. 权利要求 1 所述的基因芯片上的探针特征是从 SARS 冠状病毒全基因组中的每 40-80 个碱基序列作为一个探针序列，相邻探针序列重复 5-30 个碱基。
5. 权利要求 1 所述的基因芯片上的探针特征特别是指以 70 个碱基序列作为一个探针序列，相邻探针序列重复 25 个碱基的模式。
6. 权利要求 1 所述的基因芯片的用途之一是用于检测 SARS 冠状病毒。
7. 权利要求 6 所述的检测对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。
8. 权利要求 1 所述的基因芯片的用途之二是用于监测 SARS 冠状病毒的变异和亚型。
9. 权利要求 8 所述的监测对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。
10. 权利要求 1 所述的基因芯片的用途之三是用于鉴别 SARS 冠状病毒和其它冠状病毒。
11. 权利要求 10 所述的鉴别对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。

与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片及其用途

技术领域 本发明属于生物技术领域，具体涉及与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片及其构建策略、方法及用途。

背景技术 病毒检测基因芯片背景。基因芯片，简单地说就是在一块特殊处理过的玻璃片或其它固相支持物（如硅片、聚丙烯膜、硝酸纤维素膜、尼龙膜等）上，将基因探针以大规模阵列的形式排布，形成可与目的分子（如病毒基因组）相互作用的固相表面。分子杂交后的探针阵列因为探针上结合目的分子的不同而在激光的顺序激发下分别呈现不同的荧光发射谱征，根据其波长及波幅特征收集信号，作出比较分析从而得到所要的信息。

基因芯片现今的应用主要有以下方面：基因表达特征分析；基因差异表达检测；新基因的发现；大规模 DNA 测序；基因型、基因突变和多态性分析；遗传病相关基因的定位；肿瘤相关基因的检测；单一或少量感染性疾病的诊断以及药物研究等。

病毒检测芯片具有以下特点：

1、高通量：每平方厘米上可以结合 5000-10000 个核酸探针，也就是说可以同时平行地进行上万个分子杂交反应。现今基因序列已知的上千种病毒仅通过一张芯片就可以完全容纳。

2、高精度、灵敏度：通过分子杂交来检测病毒的存在是当前应用的技术精确性和特异性最高的，据报导中表明，应用基因芯片技术进行临床诊断，准确度可达到 98%-100%。

3、组合性：现在开发出的可以检测病毒的基因芯片产品均只能单一性检测一种或少量几种病毒，如此则不能发挥基因芯片最大的技术优势。我们的病毒组合检测芯片将几乎全部已知病毒的检测组合在一张芯片上，最大程度地利用芯片技术的潜力，提高时效性的同时降低成本。病毒的组合检测对于环境监控和质量监督等方面则具有划时代的意义。

4、周期短、低成本、低工作量：通过常规方法对病毒进行分子检测通常至少需要一周时间，且对于多种病毒则需要相同的工作重复进行。病毒组合检测芯片可以在 4-5 小时的自动化过程中一次性检测所有病毒，大大降低工作时耗、强度和试验成本。

SARS 冠状病毒相关背景及 SARS 冠状病毒全基因组芯片的背景技术：

从 2002 年 11 月到现在，世界范围内的急性呼吸窘迫综合症（severe acute respiratory syndrome, SARS）的爆发和流行被证明与一种新型变异的冠状病毒相关，目前国际上将这种病毒叫做 SARS 相关冠状病毒（SARS related virus）或 SARS 病毒（SARS virus），在本发明中我们称之为“与 SARS 相关的冠状病毒”。在中国将这种急性呼吸窘迫综合症也称做非典型性肺炎。3 月 23 日，亚特兰大的美国疾病预防控制中心寄往 UCSD Dr. Derosi 教授的标本经过其对包含 1000 种病毒的芯片测试，首次证实造成这种大规模流行的病因是一种冠状病毒。继之，加拿大 BCCM 基因组科学中心 4 月 13 日首次发布了 SARS 冠状病毒（Genbank 序列号：AY274119）全序列，4 月 15 日 Genbank 加以注释再次发布（Genbank 序列号：NC_004718）。4 月 16 日给猴子单独接种这种从临床确诊病人身上分离的 SARS 冠状病毒，发现在猴子身上引起的症状与 SARS 病人极其相似。WHO 的 SARS 多中心协作研究成员在 WHO 多国协作研究基础上基本确定一种新型冠状病毒是这种急性呼吸道症状 SARS 的病原，衣原体等其它可疑病原仍需进一步评估。

所报道的目前认为是 SARS 的发病原因的冠状病毒，是一种变异程度非常大的冠状病毒。它属于冠状病毒科（来自拉丁语 corona，象皇冠的），是一种 RNA 病毒，病毒体含有单链正链线性 RNA 分子，感染脊椎动物，尤其是温血动物，包括一些哺乳类（比如人、牛、猫、猪和鼠），以及几种禽类（比如火鸡和鸡）。该科病毒基因组由 RNA 组成，具有 29,000 个到 31,000 个碱基。

香港大学最新发现，感染人类的“非典”病毒成员最少有6个。这项发现，可为近日部分患者药物无效、病情反复之谜，提供破解的线索。然而，从卫生防疫角度看，“非典”病毒数目繁多，短期内逐一击破，会非常困难。港大医学院微生物学系将多个来自世界各地的“非典”病毒样本作比较，竟发现当中6个病毒样本，某一段基因出现不相同的组合，包括两个来自香港本地，两个来自广州、一个来自加拿大和一个来自美国的，就是说6个病毒是家族中不同的成员。不过，目前尚不知哪个样本的病毒是“母体”，研究人员倾向于来自香港的一个样本与来自加拿大和美国的相似；而来自香港的另一个样本，则与广州的两个样本相似。暂时未知这些非典型肺炎病毒家族成员是本已存在，还是由其中一种非典型肺炎病毒变种衍生出来的。而各家族成员之间的关系，以至病征上的异同都尚未清楚。不过，这发现可能有助解答一系列患者感染后出现病情极大差异之谜。

香港大学的研究结果，证实一直以来不少人“非典”病毒不只一种的担忧，是正确的。虽然未知这六个病毒成员之间的关系，但由于成员有六个之多，有关专家由此推断，非典型肺炎的康复者有可能在康复后，再受另一种病毒成员侵袭。身体并没有相应抗体下而受感染，造成重复感染的现象。另一方面，若病毒有6个成员，部分病患者体内可能同时有两个以上不同病毒成员，令医护人员更难制订有效的治疗方案。医护人员必须知道病人身上的病毒是哪一个成员，才可以采取最有效的治疗方案，而测试方法亦因此受到限制。这无疑对防治及康复等工作倍添困难。

历史上，标准病毒检测技术依赖于病毒分离和体外病毒培养或者免疫检测。当前SARS冠状病毒的抗体和抗原标准还未建立，并且免疫检测主要依赖于抗体的质量和可获得性，SARS冠状病毒单克隆抗体和ELISA的IgM抗体研究还正在进行。SARS标准化细胞株也未建立，SARS冠状病毒体外培养较难，SARS冠状病毒代谢模式和抗体动力学研究仍不清楚。已经开发出的SARS冠状病毒诊断ELISA试剂盒的敏感性及特异性还有待进一步确认。甚至是目前最好的方法学的缺陷也变得明显。我们研制的SARS冠状病毒全基因组芯片除了在诊断上具有绝对优势，对基因多样性数据库的建立；人群中SARS冠状病毒全基因组序列变异的监控以及环境中SARS冠状病毒污染的监控有特别重要的意义。目前针对冠状病毒的实验室检测存在着局限性，因此SARS冠状病毒全基因组芯片的应用是十分必须的。下面将就三个方面阐述SARS冠状病毒全基因组芯片的重要意义：

（1）SARS冠状病毒全基因组芯片对于“超级传染源”的早期发现以及愈后病人对环境污染的监控有重要意义。PCR检测具有很好的特异性，但是无法检测出所有分泌冠状病毒的病人。尽早并可靠地检测出SARS冠状病毒可以帮助医生识别当病人出现发烧和其他可疑症状时是否感染了SARS，同时将其及时隔离并严格实施控制感染的措施。这将大大降低SARS病人将疾病继续传播的危险。

“超级传染源”一词用以描述一名感染SARS的病人将疾病传染给很多人。“超级传染源”的现象出现在疾病暴发的早期，当时对这种现象没有足够的认识和了解。最初人们只知道SARS是一种新型疾病，认为很多患有非典型性肺炎的病人是由其他原因造成的，因此并没有对感染者实施隔离和严格的控制措施。因此疾病暴发的早期没有实行严格的感染控制措施。在缺乏保护措施的情况下，很多医务工作者，病人亲属以及前往医院的探视者都暴露于SARS冠状病毒之下。随后也都发展为SARS病患。有专家指出SARS病人出院后在一段时间内都有可能对环境造成潜在的SARS冠状病毒威胁。

（2）SARS冠状病毒全基因组芯片对于追踪并确定SARS冠状病毒的动物来源有重要意义。已有报道狗的主人中一人因感染“非典”后死亡，家中其他成员也根据防治“非典”的有关措施予以隔离。家人养的这只宠物狗，也在此期间死亡。有关部门还没有确定其是否是因为感染“非典”而死。荷兰Utrecht大学的Peter Rottier研究小组通过对传染性猫腹膜炎病毒（Feline Infectious Peritonitis Virus, FIPV）导入小鼠冠状病毒的一个基因片段，猫

FIPV 就可以感染小鼠细胞了。这项研究证明冠状病毒能够通过基因组改轻易的改变宿主，进而推断 SARS 冠状病毒可能是现有的动物及人类冠状病毒突变成一种更致命的形式造成的。如果另外的证据支持这种动物性感染，通过对动物身上分离得到的 SARS 冠状病毒进行全基因组芯片分析可以轻易分析证实这种种系间传播的分子依据。

(3) SARS 冠状病毒全基因组芯片对于 SARS 冠状病毒基因多样化数据库的建立有重要意义。有报道说从台湾两个人分离到 SARS 冠状病毒其并不出现 SARS 相关临床症状，对这种分离到的 SARS 冠状病毒进行全基因组芯片分析有助于对 SARS 冠状病毒遗传抗性的认识。当然 SARS 冠状病毒可能存在的天然遗传抗性不是由单一因素决定的，但是仅仅依靠血清学以及 PCR 的方法不能确定 SARS 冠状病毒相关具体基因的多样性以及可能发生的微小改变，当 RNA 病毒（比如 HIV 病毒和流行性感冒病毒）在活细胞内迅速增殖（基因组复制和病毒体装配）时，它们可以在短期内较容易地在不同组织中改变其遗传结构。因此，专家认为研究 SARS 冠状病毒的突变范围对病毒感染的诊断和治疗是非常必要的。SARS 冠状病毒全基因组芯片可以方便快捷地达到这一目的，对病毒株的变异以及分子流行病学调查有重要意义。

我们设计的 SARS 冠状病毒全基因组芯片主要根据 GenBank 公布的 SARS 相关冠状病毒全基因组序列（GenBank 序列号：NC_004718）以及迄今 GenBank 公布的所有 SARS 冠状病毒全基因组序列（包括 1、SARS 冠状病毒 HKU-39849，GenBank 序列号：AY278491；2、SARS 冠状病毒 Urbani，GenBank 序列号：AY278741；3、SARS 冠状病毒 CUKW-W1，GenBank 序列号：AY278554；以及 GenBank 已公布了部分基因组序列的 SARS 冠状病毒 1、SARS 冠状病毒 BJ04，GenBank 序列号：AY279354；2、SARS 冠状病毒 BJ03，GenBank 序列号：AY278490；3、SARS 冠状病毒 G201，GenBank 序列号：AY278489；4、SARS 冠状病毒 BJ01，GenBank 序列号：AY278488；5、SARS 冠状病毒 BJ02，GenBank 序列号：AY278487；6、SARS 冠状病毒 Taiwan RNA-directed RNA 多聚酶（pol）基因部分编码区，GenBank 序列号：AY268049；7、SARS 冠状病毒 Vietnam200300592 多聚酶基因部分编码区，GenBank 序列号：AY269391）。它与现在已有的冠状病毒比较结果显示，其核苷酸水平的相似性极差。其中我国测完 SARS 冠状病毒全基因组序列的五株 SARS 相关冠状病毒分别分离自广州和北京地区的患者及死亡病例中。其中两株分别来源于不同地区死亡病例的尸解肺组织标本；一株来源于北京尸解肝和淋巴结组织混合物；还有一株则来源于北京患者鼻咽拭子标本。

与加拿大与美国发布的冠状病毒序列的比较显示，该病毒的变异能力极强，在很短的几代内有多处碱基突变。包括进这些不同来源的所有标本全基因组序列，将使我们的芯片覆盖了所有已知的变异并将十分准确地确定标本是否被 SARS 冠状病毒感染，并有助于了解病毒的突变机制，及时掌握病毒在各地区的分布情况，提高检测的准确性。

我们的选择策略是，从待选基因组序列的 5' 端开始，以 40-80 个碱基为探针标准长度，相邻探针重叠 5-30 个碱基，选出的探针序列完全覆盖了整个基因组序列。与存放小量的 PCR 扩增基因策略不同，这使我们能够靶向基因的最大独特性区域，得以在保留敏感性的同时消除交叉杂交的问题。而且它不需要昂贵的和费时的酶扩增以及证实上千条 DNA 模板的过程。这对冠状病毒特别重要，因为其基因组 A/T 含量比较高，约 60%，使用较长的合成的寡核苷酸解决了这一问题。

根据同样的选择策略，我们设计了针对猪传染性胃肠炎病毒 (Porcine transmissible gastroenteritis virus, TGEV) 以及禽传染性气管炎病毒 (Avian infectious bronchitis virus) 的 40-80 碱基对长的病毒保守序列的特异性寡核苷酸探针，这样在快速排查 SARS 冠状病毒的基础上可以进一步排查是否还有其它动物类型冠状病毒的感染。冠状病毒在人以及家畜和实验动物上引起的许多疾病都有重要经济价值，经常导致动物严重的肠道或者呼吸道感染。猪传染性胃肠炎是由冠状病毒属的猪传染性胃肠炎病毒引起的一种急性、高度接触性的传染病。病猪和带毒猪是本病的主要传染来源。目前尚无特效的药物可供治疗，此病发病率

率很高，传播快，一旦发病，采取隔离、消毒措施效果不大。禽传染性支气管炎，通常可根据发病情况，解剖所见作出诊断。目前尚无特效药物。

本芯片还包含从烟草花叶病毒全基因组序列以及人基因组中 10000 个已知基因和 7000 多个 EST 片段选出的 40-80 个碱基对长的寡核苷酸的阴性探针，共计有数十个至一百个芯片扫描的阴性对照点。将杂交完毕的芯片置于激光共聚焦芯片扫描仪中进行图像数据的转换，以激光作为激发光源进行扫描，采集各个杂交点荧光信号的位置、荧光强度等信息，运用专业分析软件例如 AMAD (Analysis of Microarray Data 的缩写) 对所采集的数据进行数据转换，主要组成分析、各种簇的分析，进而确定样品是否有 SARS 感染。本芯片将仔细选择的病毒序列与随机扩增步骤组合，克服了以往基于 RT-PCR 检测策略的局限，使得检测范围更广，检测结果更为公正。

冠状病毒在人以及家畜和实验动物上引起的许多疾病都有重要经济价值，经常导致动物严重的肠道或者呼吸道感染。

猪传染性胃肠炎是由冠状病毒属的猪传染性胃肠炎病毒引起的一种急性、高度接触性的传染病。病猪和带毒猪是本病的主要传染来源。目前尚无特效的药物可供治疗，此病发病率很高，传播快，一旦发病，采取隔离、消毒措施效果不大。禽传染性支气管炎，通常可根据发病情况，解剖所见作出诊断。目前尚无特效药物。

我们在国际互联网上查获，国际上只有 Combinatrix 公司宣布在 SARS 病毒全序列发布 48 小时之内研发出了诊断 SARS 相关冠状病毒的芯片。本发明的与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片包括进刚刚测完序的全基因组序列信息，并立足于现有的芯片开发及病毒背景资源丰富的优势，将不断完成的其它 SARS 病毒变异序列有效地包括进去。

下面是目前已知的所有冠状病毒分离株：

```

←Corona_S2 (130)
←Viruses(130)
  ←ssrna positive-strand viruses-no dna stage(130)
    ←nidovirales(130)
      ←coronaviridae (130)
        ←coronavirus transmissible (5)
        ←coronavirus enteric (2)
        ←coronavirus epidemic (4)
        ←coronavirus coronavirus (37)
        ←coronavirus sialodacyoadenitis (1)
        ←coronavirus gastroenteritis (5)
        ←coronavirus hepatitis (9)
        ←coronavirus infectious (61)
        ←coronavirus hemagglutinating (1)
        ←coronavirus respiratory (5)
  
```

下面是目前已经得到全基因组序列的冠状病毒：

- Avian infectious bronchitis virus
 - . Avian infectious bronchitis virus (strain 6/82)
 - . Avian infectious bronchitis virus (strain Beaudette CK)
 - . Avian infectious bronchitis virus (strain Beaudette M42)
 - . Avian infectious bronchitis virus (strain Beaudette US)
 - . Avian infectious bronchitis virus (strain Beaudette)

- . Avian infectious bronchitis virus (strain D274)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain D3896)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain Gray)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain KB8523)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain M41)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain Portugal/322/82)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/123/82)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/142/86)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/167/84)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/183/86)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/68/84)
- Avian infectious laryngotracheitis virus
- Enteric coronavirus
- Equine coronavirus
- Group 1 species
 - Canine coronavirus
 - Feline coronavirus
 - Human coronavirus (strain 229E)
 - Porcine epidemic diarrhea virus
 - Transmissible gastroenteritis virus
- Group 2 species
 - Bovine coronavirus
 - Human coronavirus (strain OC43)
 - Murine hepatitis virus
 - Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus
 - Rat coronavirus
- Group 3 species
 - Turkey enteric coronavirus
 - Human enteric coronavirus 4408

发明内容 本发明中，我们的芯片设计的策略是以 SARS 冠状病毒 TOR2 株全基因组序列 (NC_004718) 为检测对象，设计相应的探针和芯片。我们以 SARS 冠状病毒全基因组中的每 40-80 个碱基序列为一个探针序列，相邻探针序列重复 5-30 个碱基，特别是以 70 个碱基序列为一个探针序列，相邻探针序列重复 25 个碱基作为首选的选择模式，从而覆盖整个 SARS 冠状病毒的基因组。合成好的探针利用基因芯片点样仪点制于固相载体表面，固相载体可以包括玻璃片、硅片、聚丙烯膜、硝酸纤维素膜、尼龙膜等材料制成的片基。

利用逆转录及聚合酶链反应技术，我们将来自人体的血液及分泌物等临床样品以及相关病毒的标准样品等中提取的总体 RNA 进行逆转录和扩增，在扩增的过程中掺入荧光标记。扩增标记产物与芯片进行杂交反应后，荧光信号通过基因芯片扫描仪扫描分析处理，最终得到全基因组探针的阴性结果。经过与标准毒株杂交结果的对比可以得到检测样品的带毒情况。

本发明的技术路线是：探针设计、探针合成、芯片点制、样本处理与标记、芯片杂交、结果分析。

本发明描述了一种基因芯片，其特征是固定在基片上的探针矩阵覆盖了 SARS 冠状病毒的全基因组序列，所描述的 SARS 冠状病毒的全基因组序列是指 GenBank 已公布的 SARS 冠

状病毒株或亚型的全基因组序列，所描述的 SARS 冠状病毒株或亚型包括 SARS coronavirus TOR2 (GenBank 序列号：NC_004718/AY274119)，SARS coronavirus HKU-39849 (GenBank 序列号：AY278491)，SARS coronavirus CUHK-W1 (GenBank 序列号：AY278554)，SARS coronavirus Urbani (GenBank 序列号：AY278741)，SARS coronavirus BJ01 (GenBank 序列号：AY278488)，SARS coronavirus BJ02 (GenBank 序列号：AY278487)，SARS coronavirus BJ03 (GenBank 序列号：AY278490)，SARS coronavirus BJ04 (GenBank 序列号：AY279354)，SARS coronavirus GZ01 (GenBank 序列号：AY278489)。

本发明所描述的基因芯片上的探针特征是从 SARS 冠状病毒全基因组中的每 40-80 个碱基序列作为一个探针序列，相邻探针序列重复 5-30 个碱基，所描述的基因芯片上的探针特征特别是指以 70 个碱基序列作为一个探针序列，相邻探针序列重复 25 个碱基的模式。

根据同样的选择策略，我们还设计了针对猪传染性胃肠炎病毒 (Porcine transmissible gastroenteritis virus, TGEV) 以及禽传染性气管炎病毒 (Avian infectious bronchitis virus) 的 40-100 碱基对长的病毒特异性寡核苷酸探针。这样的设计策略的目的是，在快速排查 SARS 冠状病毒的基础上可以进一步排查是否还有其它动物类型冠状病毒的感染。

本发明所描述的基因芯片的用途之一是用于检测 SARS 冠状病毒，所描述的检测对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等，所描述的基因芯片的用途之二是用于监测 SARS 冠状病毒的变异和亚型，所描述的监测对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。

本发明所描述的基因芯片的用途之三是用于鉴别 SARS 冠状病毒和其它冠状病毒，所描述的鉴别对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。

附图说明 说明书附图中图 1 所示为与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片点样示意图，点制规则为每条探针重复三个点，分为 5 个矩阵，每个矩阵 136 条探针，每个矩阵包括 38 个阳性坐标点，形成 25 列×14 行的点阵。每组三联点为一条探针。图中的 A 所示的灰色点为阳性坐标点，B 所示的黑色三联点为检测探针。

具体实施方式 以下实施例对本发明的与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片的制备和用途作了详细说明，但并不意味着限制本发明的内容。

实施例 1 芯片的制备

探针的选取：

我们选取 SARS 冠状病毒 TOR2 株全基因组序列 (NC_004718) 为检测对象，设计相应的探针和芯片。TOR2 株全基因组序列 (NC_004718) 基因组全长 29736 碱基，从 5' 端开始，以 70 个碱基为探针标准长度，相邻探针重叠 25 个碱基。如探针 1 的首尾位置为基因组序列中第 1-70 个碱基，探针 2 的首尾位置为基因组序列中第 46-115 个碱基，探针 3 的首尾位置为基因组序列中第 91-160 个碱基，探针 4 的首尾位置为基因组序列中第 136-205 个碱基，以此类推，共得到 660 个探针。如表 1 所示，这 660 个探针覆盖了该基因组的全部序列。每条探针的 5' 端进行氨基修饰。

表 1 SARS 冠状病毒 TOR2 株全基因组探针序列

序号	序列	起始位点
sars001	CTACCCAGGAAAGCCAAACCAACCTCGATCTCTGTAGATCTCTAAACGAACTTTAAATCTGTC	1

sars002	CTCTAAAGGAACTTAAATTCGTGAGCTCTGGCTGGCTGAGCTAGTGTCACTACCGAGTATAAA	46
sars003	GCCTAGTGCACCTACGGCACTATAAACATAATAAATTTACTGTGTTGACAAGAACGAGTAACGTG	91
sars004	GTGACAAGAACGAGTAACGTGCTCCCTTCGAGACTGCTTCGGTTTGTGAGCTGAGCTGAT	136
sars005	CGGTTTCGTCGGTGTGAGCTGATCACAGCATACCTAGGTTTGTGTCCTCAGGTTAGAGACCTCTGAT	181
sars006	GTCCGGGTGTCGACGGGAAAGCTTAAGATGNGAGGCGTGTGTCGAGGAGAACACACGCTCAC	226
sars007	GTCAACCGAAACACACAGTCAACTCAGTTGCTGTCCTCAGGTTAGAGACCTCTGAGCTGCTGCT	271
sars008	GTAGAGACGGCTAGTGGCTGCTGGGGACTCTGTGAGAGAGGCCCTATCGGAGGCCAGTGACACC	316
sars009	GCCTCATGGGAGGCGTGAACACCTCAAAATGGCACTTGTGTCAGTAGAGCTGAGAACGGCTAC	361
sars010	CTAGTACAGTGGAAAGGGCTACTGCCCAACCGTCAACCCCTATGCTTCAATTACACCTCTGAT	406
sars011	TATGTTGTCATTAACCGTGTGTCGTTGACAACCCCTGAGAACCCCTATGTTCTTAAACCTCTGAT	451
sars012	CACAGGTCGTCGTTACGTCGTTGAGAAATGAGGCCATTCACTAGTCAGGCTGTCAGCGTATAAACCTGGGAG	496
sars013	GGTCGTAGCGGTATAACCTGGGACTACTGTCGCACTATGTCGAGAACCCCAATTGACATCCGAAATG	541
sars014	GAACCCCAATTGCACTACCGCAATTGTCCTTCGTAAGAACGGTAATAAGGGAGCCGGTGTGTCATGCT	586
sars015	ATAAGGGAGCCGGTGTGTCATAGCTATGTCATCGATCTAAAGTCTTGTACTAGGTTGACACCTTGGCA	631
sars016	TATGATTTAGGTGAGCGCTGGGACTGTGTCGTTGACTGATGAAACAAATCTGGAAACACTAAGCAT	676
sars017	GAACAAACGGTACACATAAGCTGGCACTGGTCGTCAGTCTGACTCTGTCAGGCTCAATGGAGGTG	721
sars018	CTACTCTGAGCTCAATGGAGCTGAGCTGACTGTCGACATGTCGACACAAATTCTGGGCCAGATGGT	766
sars019	ACAAATTCTGTGGGAGGATGGGTACCCCTTGTGATTGATCAGAAGTTTCTGGCACAGGCGGGCAAGT	811
sars020	GATTTTCGCAACGGGGCAAGTCATGTCATCTTTCGAACTTCGATTACATCGAGTCGAAGA	856
sars021	CAACTGATTTACATCGACTCGAAGAGAGGTGCTACTGTCGCGTGACCATGAGCATGAAATTGCTGT	901
sars022	GACCATGGCATGAAATTGCGTTGCTGTCAGCTGAGCTCTGTCAGACTGTCGACCTGGCA	946
sars023	AGTCAGGACAGGACACCCCTGGAAATTAGGTGCGCAAGAMATTGACACTTTCTAAAGGGAAATGCC	991
sars024	TTTGACATTTCAAGGGGAATGGCAAAAGTTGTTGTTCTTAAACTCAAAAGTCAAATCTAAC	1036
sars025	ACTCTAAAGTCAAAGTCATTCACACCGTGTGAAAGAAAACACTGAGGGTTTATGGGGTATAC	1081
sars026	ACTGAGGTTTCATGGGGCTATACCGCTCTGTGACCTTGTGTCATCCACAGGGTGTAAACATATG	1126
sars027	TCTCACAGGGATGTCATACAAATTCGACTCTGTCCTGACCTTGTGAAATGTAATTCGGATGAGTTTC	1171
sars028	TGTAATCATGGCATGAGTTTGTGAGCTGAGCTGGCAGACCTGTTCAAGGCACTTGTGACATTTGCGA	1216
sars029	AAAGCCTACATTGCGCACTTGTGCACTGAAMATTGTTACTTGTGAGCACTACTACATGTGGTACCTAC	1261
sars030	GGACCTACTACATGTCGACTACCTACTAATGCTGTCAGGAAATGCGCATGTTGAGAAATGCGATGTCGCTGCAAGAAC	1306
sars031	ATGCCATGTCGTCGTCAGAACCCAGAGATTGCGACCTGACCATGTTGAGATTATCACACCACT	1351
sars032	AGTGTGCGAGATTACACCAACCTCAACATTGAAACTGAGCTGGAGCTGGAGGAGGTAGGACTAGTGT	1396
sars033	CGCAAGGGAGGTAGGACTAGATGTTGGGAGCTGTTGAGGCTATGTTGGCTATATAACCTGG	1441
sars034	TATGTTGGCTCTATAATAGCGCTGCTACTGGGTTCTGTCTGACTGCTGATATTGCGTCAGCCATA	1486
sars035	AGTGTGCGAGATTACCTGGCACTTGTGCAACTGAGCTGGAGCTTGTGACAACTGGAGACCTTGTGAAATGAGGATCTCC	1531
sars036	TTGGAGACCTGGTAACTGGAGGATCTCTCTGAGATACTGAGTCGAGCTGGTTAACATTAACTTGTGCGG	1576
sars037	CCTGTTAACATTAACTGTTGGGAGTTTCAATTGAACTGGCTCATATTGGCATCTTCT	1621
sars038	TTGGCCATATTGGCATCTTCTCTGCTTCAACTGGCTTATTGACACTATAAGACTCTTGT	1666
sars039	ATTGACACATAAACAGTCTGATTCAAGCTTCTTCAACCCATTGTTGAGCTGCTGGCTAACTATAAAAG	1711
sars040	TTTGAGTCTGGCTACTATAAGTAACTGGGAAAGGGAAACCTGGCTTTCCTCCACAGGCTG	1756
sars041	AAAGGTGCTTGGAAACTTGGCAACAGCACAGGCTGAGTGTGAACTTGGGAACTTGTGAGCTG	1801
sars042	CTGTCGTTGCTTCACAGGCTGCTGTTGAGCTACCTTGGGCAACACTTGTGAGCGAAC	1846
sars043	TTGGCGGACACATTGAGCAACACCTCAATTGTTGAGGCTGAGCTGTCACCTTGTGAGCGAAC	1891
sars044	CAAGAGCAGCTGCAACCAACTGATGTTGAGTATTGCTGAGCTTGTGACACTGTCACCAACTTG	1936
sars045	TTACGTCTTGTGAGCCGCTAGGTTTATCTGAGCTGACACTGTCACCCACAGTGTGTCATTATGGCATATG	1981

sars046	AAACAGTGTCAATTATTGTCATATGTAACCTGGGGCTTGTACACAGACTTCTAGTGGTTGCTAATC	2026
sars047	CAGACTCTTCAGTGGGTCTATCTTGGGCAACTCTGTGAAAMAACCTCAGGCGATCTTCGAATGGA	2071
sars048	AAACTCAGGCTATCTTGAATGGATTGAGGGAAACCTAGTCAGGAGGTGAATTCTCAAGGATGCTT	2116
sars049	GGAGTGAATTTCAGAGATCTGGGGAGATTCTCAAAATTTCATTCAGGTGTTTGGACATGCTCA	2151
sars050	ATTACAGGGTTTTGACATGTCAAAGGTCAAATCAGGTTCTTCAGATAACATCAAGGATTGCTGAA	2206
sars051	TCAGATAACATCAAGGATTGTTGAATTCGCTTATGATGTTGAAACAGGCACTCGAAATGTCATG	2251
sars052	AAACAGGCACTGGAATGTCATGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAG	2296
sars053	GCAGAGTGGCATCTCAAGCTTCTGAGGTGAACTCTCAAGGCAAGGCAATTACCGTCAGTCAG	2341
sars054	AGCAAGGGACTTTACCGTCAGTGAATCTGGCAAGGCAAGGCTCAGTCAGTCAGTCAGTCAG	2386
sars055	CAACTCTTCGCTCTTAAAGGCAAAAGAAGATAACCTTCTGAGGTGATTCACTGACAGTCAG	2431
sars056	GAAGGTGATTCACTGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAGTCAG	2476
sars057	CTCAAGACGGTGAACCTGAGACACTGGAGACGGCCGGTGTAGTCACAAATGGACTATCTCGCA	2521
sars058	TTCAAAATGGGACTATGTCGGCACACCTGTCGTGAAATGGCTCATGCTTACAGGATTAAGGACA	2566
sars059	CTCATGCTCTTAAAGGATTAAGGACAAGAACACTACCTGCGCTATGCTCTGTTACTGGCTACAA	2611
sars060	TCTCTGTTTACTGCTCACAACACTGTCATTCCTTCTCTTAAAGGGGGTCACCAAATTAAGGTTCAAC	2656
sars061	GGTGCACCAATTAAAGGTTGAATCTGGAGAAGATCTGGGAGCTTCAGGTTAACAGAATGTTGA	2701
sars062	GAAGTTCAGGTTCAAGGTTCAAGTGAATGTCACATTCAGGTTGATGAACTGTTGACAAAGTGTAAATG	2746
sars063	GAACGTGTTGACAAGTCCTTAAAGTGAAGACTCTGTCACACTGTTGACATGGGTACCGAGGTACT	2791
sars064	GTGGAATCCCGTACCGGAACTTACTGACTTGTGCTGTTGAGCAGGGCTGTGTCAGACTTACAC	2836
sars065	GAGGCTGTTGTAAGGACTTAAACAGTTCTCATCTCCCTTACACATGGGTATTGATCTGATGAGT	2881
sars066	AACTATGGTTATTTGCTGACTGAGTGTAGTCAGTCATCTTCTTATTTGATGATGCTGTCAGAAA	2926
sars067	TTATTCATGATGCTGCTGAGAAGAAACCTTTCACACTGTTGATGTTGCTCTTACCCCTACAGTGG	2971
sars068	TGTTCTTTTACCTTCAGATGAGGAAAGAAGGACAGTACGGTGTGAGGAAAGAGAAATTGATGAA	3016
sars069	TGTGAGGAGAACAAAATGATGAAACCTCTGACATGACTGGTACAGGAGGATATTACAGGTCCTC	3061
sars070	ACAGAGGTGTTATCACAGGTCCTCTGGAATTGGTGCCTCAGCTGAAACCTGTTGCTGAGGAAG	3106
sars071	CTGAAACACTTCGAGTTGAGGAAGAGAAGAGGAAGACTGCTGCTGATGATACTACTGACCAATCAGA	3151
sars072	GTGACTACTCTACGAACTTCAGGATTGAGCCAAACAGAACCTCACCTGAAAGAACAGTTAACAGT	3196
sars073	AAACCTGAGAACAGGTTAACTGTTACTGTTTAAACTCTGACATGTTGTCCTTAAATGTC	3241
sars074	ACTGACATTCGCTTCTGATGTTGACATGTTGACATGTTAAGGAGGCAAAAGTCCTAATCTATGCTGATTG	3286
sars075	CAAGAGTCTTAACTTCTATGTTGATGTTAAATGCTGTCACATCACCTGAAACACTGTTGCTGTCAG	3331
sars076	CTGAAACATGTTGCTGCTGAGCTACAGGTCACACTCAACAGGAAACATGTTGCTGAAACAGACTG	3376
sars077	AACTGGTGCATGCAAAGGAGGAGTGTGATCAATTACATTAAGCTATAGCTATGGCTCTTACAGTGGAGGTCTT	3421
sars078	GGCGCTCTTACAGTAGGAGGGCTTGTGTTCTGTCAGATACTTCTGAAAGAAGTGTCTGCACTGTT	3466
sars079	CTTGCTAAGAAGTGTGTCATGTTGCTGACATGTTGAGGACATACCTGAACTGCTTCAAGGAG	3511
sars080	GGTAGGACATCTCCAGGCTTAAAGGACCATATGAAATTTCATTCAGGACATCTTACTTGACCAT	3556
sars081	TCACAGGACATCTTACTGACCATGTTGTCAGGACGACATCTTGTGCTAAACACTCTGCTTAC	3601
sars082	GGTCGTTAACACACTTCAGTTCACAGTGTCTGAGGCTGCTGACACAGGTTATTTGAGTCA	3646
sars083	CTCACAGGTTTATTCAGTCATGACAACAGCTTTATGAGCAGGTTGTCAGGTTATCTTGATA	3691
sars084	CAGCTTGTCACTGATGTTCTGATGAAACCTGAGGCTCTAGCTGGAGGACCTAAACAGAGGAGCCACCA	3736
sars085	GCACCAAAACAGGAGGCCAACACAGGAGATTCACACTGAGAAATCTGTCAGTCAGAAGC	3781
sars086	GAGGAGAAATCTGCTGAGGAGCAGGCTGTCAGGAGGAAACATTAGGCTGCAATTGAGGTTA	3826
sars087	TTAAAGGCTCTGATTGAGGTTACCAACACAGTGGAGAAACTGTTCTACCAAAATGTTACTCT	3871
sars088	AAAGTCTCTACCAAAATGTTACTCTGTTGCTGATATCAAGGTTAGGCTTACCATGATTCTCAGAAC	3916
sars089	AAAGCTTACCATGATTCAGAACATGCTTACAGGAGGTGAAGGATATGTCCTTGGAGAAGGATGCCAC	3961

sars090	TCTTTCTTGAGAAGGGATGCCACCTTACATGTAGGTGTTACTACTGTGTTGATATCACTGTGTTG	4006
sars091	ACTAGTGGTGATATCATCTGTGTTGATACCOCTCAAAGGGCTGGCCACTACTGAGATGCTCAA	4051
sars092	GCTGGCACTACTGAGATGCTCTCAAGAGCTTGGAGAAGGTGCACTGAGATGCTCAA	4096
sars093	GTTGATGAGTATATAACCAAGTGACCCCTGAGACAGATGTGCTGGTTATACACTTGAGGAAGCTAAGACTG	4141
sars094	TATACACTTGAGGAGAGCTAAGACTGCTTAAAGAAATGCAAATCTGCACTTTATGTACTACCTTCAAGAG	4186
sars095	GCATTTTATGTACTACCTTCAGAGACCTATAGCTTACAGAAGAGATTCTAGGAACCTGATCTGGATT	4231
sars096	ATTCCTAGGAACTGTATCTCTGGAATTGGAGAGAAATGCTTGCTCATGCTGAGAGACAAGAAAATTATGC	4276
sars097	GCTGAAGGAGCAAGAAAATTATGCTCATGATGTTAGACCCATAATGCCACCATCCACGTT	4321
sars098	GCATATACTGCCACCATCAGCTTACAGTATAMGAGATTACAGGCTATGCTGAGCTATGCTGATCTG	4366
sars099	CAAGAGCCGCTTGTGCAATGCAACTTGGTTATCTGTTTATAGTAAAGAGCTGTAGCTTCTATTAA	4411
sars100	AGTAAAGAGCCCTGTAGCTTCTATTATACGAAAGCTGAACTCTCTAAATGAGCCCTGTCAACATGCCAA	4456
sars101	ATAGCAGGCGCTTGTGCAATGCAACTTGGTTATGTGACACATGGTTTATCTGAGAGGCTGCCGCT	4501
sars102	TTTAACTCTTGAGAGGGCTGGCGCTGTATGCTCTCTTAAAGCTCTGGCTGTAGTGTAGTATCATCAC	4546
sars103	CTTCAGGCTAGTGTCACTACATCAGGAGATGCTTTACTACATAATGGATACCTCCTCTGTCACTAA	4591
sars104	ATAGGATACTCTGCTCAAAAGCTACAGGAGGACTTCTAGTGAACAGTCTTCTGGCT	4636
sars105	GTAGAAACAGTTCTTCTGGCTGTCTACAGAGATTGGCTCTACGGAGACGGCTACAGGTTAGTG	4681
sars106	TCAGGAGACGGCTACAGCTTGGTGTGAAATTCTTAAAGCTGGTGTACAAAATTGTTGACACACTCTGG	4726
sars107	GACAAAATTGTGTAACCAACTCTGGAGAGCCCCCTGGAGTTCATCTTGAACGGTTCTTCACTTC	4771
sars108	CTTGAAGGCTGGTTCTTCACTTGACAAACTAAAGACTCTTATCCTGGGGAGTTAAAGACTATAA	4816
sars109	TCCCTCCGGAGGTTAAAGACTATAAAAGTTGTTCAACACTTGAGCAACACTAAATCTCACACACCTTG	4861
sars110	AAACACTAACTCACAACAGCTGGCTATGCTCATGATATGAGCAACAGTTGGCTTCAACACTAA	4906
sars111	GGACACAGCTTGGCTCACATCATGGATGTTGTTGTTACAAAATTAAACCTCATGTAATATCATG	4951
sars112	AAAATTAAACCTCATGTAATCATGAGGTTAACTCTTCTGAGACTTCTTGTACTACCTGTGATGACACACTACGTA	4996
sars113	CTACCTACTGTGACCAACTAGTAGTGAAGCTTGGAGACTACTACCATACTCTGTGAGACTTTCTG	5041
sars114	CATACTCTTGATGAGACTTCTTGTGTTGATCATGTCCTTAAACCAACAAAGAAATGAAAATTTC	5086
sars115	AAACACACAAAGAAATGAAATTCTCAAGTGGTTTAACTCTCAATTAAATGGCTGTATACAATT	5131
sars116	TCATAATTAGGGTGTGATACAACTTTGTTCTCATGACTGTTTATGGACTTCAACAGCTGGTCA	5176
sars117	TTACGACTCTCACGCCGCTACGTTACATTCACAACTGCTTACCTCAAGCCTTATTATAGACCCCTG	5221
sars118	CAAGAGCTTATTATGAGCCCGCTGGCTGTGCTGTTACTCATGCTGACTTACAGTAACTGCTTACAGTA	5266
sars119	TTCGCACTCATCTGGCTTACAGTAAATAAAACTCTTGTGCTGCTGTTGACTCATACTGCTTACAGTA	5311
sars120	GCTGATGTGAGAAACTATGACCCATCTTCAACAGCTGTTAATTTGGATCTGCCAAAGGGAGTTTA	5356
sars121	TTGGAAATCTCAACAGGAGTTCTTAAATGTTGTTGTTAACACATGTTGCTGAGAAAACTACTACCTTAACGG	5401
sars122	GTCACAAAACCTACTCTTAACTGGCTTGAGACTGTGATATATGGTACTCTTATCTTATGATAATC	5446
sars123	ATGGGACTCTATCTTATGATAATCTTAAAGCAGGTTGCTTACATGCTGTTGTTGTTGCTGATGCTA	5491
sars124	CCATGCTGTTGCTGCTGATCTCACAACTATGCTACAGACAGCTTCTTGTGTTATGATGCTG	5536
sars125	GAGTCTCTTTGTTATGATGCTGCTCACACCCCTCTGAGTATAAAACAGCAAGGTACATTCTTATGT	5581
sars126	TTACAGCAAGGTCATCTTATGCGAATGAGTACACTGGTAACTATGTTGCTGAGTTCATTACACTCATA	5626
sars127	TAATGTTGTTGTCATACATCATATACTGCTAAGGAGACCTCTATGCTATGACGGAGCTCACCTTA	5671
sars128	TAATGCTTGTGAGGACCTCAACCTTAAAGATGTCAGAGTCAAAAGGACACTGACTGATGTTTTCTACA	5716
sars129	GGACAGCTGACTGTGTTTCTACAAAGGAAACATCTTACACACTACAGACGCTGCTGTTGTTGATATAAC	5761
sars130	ACCATCAAGCTGTGCTGATATAACCTGAGTGGAGTTACTACAGAGATTGAAACCAAATTGGATGGG	5806
sars131	GAGATGACCAAAATTGGATGGGTTATATAAAAGGATAATGCTTACATACAGACGAGCTATAGAC	5851
sars132	TACTATACAGACGCCCTATGACCTTGTACCAACTCACCAATTACCAACCTGGAGTTGTTGATAATTCA	5896
sars133	CCAAATGCGAGTTGTTGATAATTCAAACTCACATGTTCAACACAAAATTGGCTGATGTTAAATCAA	5941

sars134	AAATTTGCTGTGATTTAAATCAATGACAGCCTTCACAANGCAGCTTCAGAGGCTATCTGTACAT	5986
sars135	GCTTCAGAGAGCTATCTGTACATTCTTCOCAGACTTCAGATGGGATGTAGTGGCTATGACTATAGAC	6031
sars136	GATGTAGTGGCTATTGACTATAGACACTATTCTGGAGGTTCAAGAAGGCTAAATTACTGCTAAAGC	6076
sars137	AAAGGTGCTAAATTACTGCTATAAGCCAAATTGTTGGCACATTAAACAGGCTACACCAAGAACGTTCA	6121
sars138	CAGCCATACACCAAGAACAGCTTCAAAACAAACACTTGGTTTMCAGTTCTTTGAGTACAAACCCAG	6166
sars139	CGTTGCTTGGAGTACAAGGCCAGTAGATACTCTAAATTCTATTGAGTCTGGAGTAGAACACAC	6211
sars140	GAAGTTCTGGCAGTAGAGAACACACAAGGAATGGCAATCTGCTGTGAAAGTCACAAACCCACCTCTG	6256
sars141	TGTGAAAGTCACACCCACCTCTGGTAAAGAGTATGGAAAMTCCTACAGAACGGAGTCATAGAGT	6301
sars142	ACCATACAGAACAGGAGTACAGAGTGTGCTGAAACCTACCCAGTGGTAGCCAAATGCTACCTAAAC	6346
sars143	TTAGTGGAGCATGTCATCTAGGATGAGGTTAAAGTAAACAAAGGTTAGGTCTAGGTCATGAGG	6391
sars144	GTACACACAAAGGTTAGGTCTAGGAGATCTTATGCTGCTTATGTGAAAMACAAAGGCTTACCTAAAGA	6436
sars145	GAACACACAAAGCATTACATTAGAACCTAAATAGCTTCACTAGCCTTAGGTTAAAACATTGCCA	6481
sars146	GCCTTGGTTAAACAACTTGGCACTCATGGTATTGCTGCAATTATAGTGTCTTGGAGTAAAATT	6526
sars147	AAATGTTCTCTGGAGTAAATTCTGGCTATGTCACAAACCATTCAGGCAAGCAGCAATTACACAT	6571
sars148	TTAGGACAMGCGAACATTACACATCACTGGCTAAAGGATTCAGGACAMGCTGTGTTAACATTATA	6616
sars149	GCACACAGCTGTTAACATTATGCTTATGTGTTATTGTTCAATTGTTGACTTTTACTA	6661
sars150	TGTTCCAAATGTTGACTTAACTAGAACCTAACTTCAGAAATTAGCCTTACTACCTACAACTATTG	6706
sars151	AGAGCTTCACTACCTAACAACTATTGCTAAAMAAATTAGTGTAAAGGTGCTAAATTATGTTGAGTGGC	6751
sars152	GTGCTAAATTATGTTGGATGCGGCAATTAAATTGTGAGTGCACCAAAATTCTAAATTGTCACAA	6796
sars153	OCCTAAATTCTCAATTGTCACAACTGCTATGTGCTATGTTAAAGTATTGCTTAGGTTCTCAA	6841
sars154	TTAAGTATTGCTGGTTCTCTAATCTGCTGACTCTGGCTTCTGGTACTCTTATCTAAATTGGTG	6886
sars155	GGTGTACTCTTATCTATTGTTGCTCTCTTATGTAATGGCTTAGAGAATTGTTATCTAAATTG	6931
sars156	TTAGAGAAATTGTTGACTTAAATTGCTAACGGTTACTATGTTGATTCTGAGGTTTCTTCTGCA	6976
sars157	TTCTGTAAGGGTTCTTCCTGCACTTGGTTAACTGGATTGACTCCCTGATCTTATCAGCTC	7021
sars158	GACTCCTTGTGTTCTTATCCAGCTCTGAAACCTTACGGTCACTGTTATGCTAACAGCTGACTG	7066
sars159	ATTCATGCTACAAAGCTAGATGCAAACTTAACTGGCTTGGCCCTGAGTGGGTTTGGCATATATGTT	7111
sars160	GAGGGTTTGGCATATATGTTGTCACAAATTCTTATTTATGTTAGCTGCTAAATGTCAGCAGG	7156
sars161	TTAAGCTTCTGCTTAAATGCTGGTCTCTTCTGCTTATGCTACTCTGCTTATCTGCAATTCTGGC	7201
sars162	AGTCATTCTCATCGAACCTCTGCTCATGGTTTAACTGATGTTGTCACAAATGGCACCGGTTCTG	7246
sars163	ATTCATCAAATGGCAACCGGTTCTGCTAACTGGTAGGATCTACATCTTCTTCTTCTACTACAT	7291
sars164	TTCTGCTTCTTCTACTACATATGGAAAGCTATGTCATATCATGATGGTTGACCTCTTCGACTT	7336
sars165	ATGGATGGTTGACCTCTTCTGACTTGTGACTGATGTCATAGGCTATAAGGCAATGTCACGGGTTGAGTGT	7381
sars166	AACTGCCCACGGCTTGGTACTACMACTTATGTTAACTGGCATATGAGGAGATCTCTATGCTAA	7426
sars167	AAGAGATCTTCTATGTCATGTCACAAATGGGGCGTGGCTCTGCAAGACTCACAATTGGGATTGCTC	7471
sars168	AAAGCTCACAAATTGGAAATTGTCCTGACACATTTGCTGACTGCTGAGTCAATTGTTGATGA	7516
sars169	GGTAGTACATTGTTGATGAGTGTGCTGTGATTGTTGACTCTGAGTTAAAGCACAATCACCCTA	7561
sars170	CAGTTAAAGGACCATCAACCCACTGACCTGACAGTCATGCTATATGTTGATGTTGCTGTGAAAATG	7606
sars171	TTGATAGTGTGCTGTGAAAATGGCGCTTCACCTCTACTTGACAGGCTGGCTAAAGACCTATG	7651
sars172	GACAAGGCTGGTCAAAGAACCTATGAGGACACATCCGGCTCTCCATTGTCATAATTGAGAACCT	7696
sars173	TTGCTTAAATTGACAAATTGGAGGCTAAACACAACTAAAGGTTCTGCTGCTTAAATGTCATAGTTTG	7741
sars174	CTGCTTAAATTGTCATGTTGATGCGCAAGTCACATGGCAAGCTGCTTCTAAGTCTGCTTCTG	7786
sars175	GAGTGTGCTTCAAGTGTGCTTCTGACTACGTCAGCTGCTGATGTCACAACTTATTCGTTGCTG	7831
sars176	TGCGAACCTTATCTGCTGTTGACCAAGCTCTGTTACGACCTTGGAGATGACTGAGTTCCGTTA	7876
sars177	GGAGATAGTACTGAGTTCCGTTAAGATGTTGATGCTTATGTCAGACACCTTCTGCACTTTAGTC	7921

sars178	GACACCTTTACGCAACTTATTAGTGTCTATGGAAAAACTTAAGCAGCTTGTGCTACAGCTCACAGG	7966
sars179	GCACCTTGTCTACAGCTCACAGGAGTTAGCAAMGGTAGCTTGTGCTACAGCTCACATTG	8011
sars180	TTAGATGGTGTCTTCTACATTGTGTCAGCTGCGGAGAACGGTAGTTGATACCGATGTTGACACAA	8056
sars181	GTGTTGTAAACGATGTTGACACAAGGATGTTATGAAATGTCIAACTTCAACATCACTCTGACTTAG	8101
sars182	AAACATTTCACATCACTGTGACTTAAAGGACTGACAGCTGACAGTTGACAACTTCAACATGCTACCTATAATA	8146
sars183	AAACATTTCATGCTCACCTTATAAAAGGTTGAAAMCATGACGCCAGAGATCTGGCGCATGTTAGACT	8191
sars184	AGAGATCTTGGGGCATGTATTGACTGTAAATGCAAGGCATATCACTGGCCAACTGACAAAAGTCAATG	8236
sars185	GCCCAAGTACGCAAAAAGTCAACATGTTTCACTACTGTGAACTGAAAGACTACATGTCCTTATCTGAC	8281
sars186	AAAGACTACATGCTTCTTACTGACAGCTGACAACTAACATTCTGATGTCCTGCAAGAGAACACATAC	8326
sars187	AGTGTGCTGAAAGAAGAACACATTTTAACTGACTAACTTGTGCTACAACTAGACAGGTTGTCATGTC	8371
sars188	ACAACTGACAGCTTGTAACTGTCAACTAAATCTCACTCAAGGTTGTTAAGATTGTTAGACTT	8416
sars189	AAAGGGTTGAAAGTTGTTAGCTTGTGTTAACTATGCTTAAAGGOCACATTATGTTGTTGCTG	8461
sars190	GCCACATTATGCGCTTCTGCTGATCTGGTTTATATGTTATGCGAGTACATACATGTCATAC	8506
sars191	ATGCGAGTACATACATTGCAATCATGATGTTACACAAATGMAATCTTGGTTCAAGGCCATTGAGG	8551
sars192	ATCATGGTTACAAAGGCAATTGAGGATGCTGACTCGACATCTTACTGTGATTGTTTGCAA	8596
sars193	ATTTCTACTGTGATTGTTTGTAAACATGCTGGTTTGAOCATGGTTTACCGCGTGGTGGT	8641
sars194	GCATGTTTACCGAGCTGGTGTGTCATACAAAMTACACAAAGCTCCCTGTAGTAGCTGCTATCATT	8686
sars195	TGCGCTGTAGTAGCTGCTATCATTAAAGAGAGATTGTTCTATGTGCTGGCTTACCGGGTACTGTGC	8731
sars196	GTGCGCTTACCGGTTACCGGTTACTGTGCTGAGACAACTAATGGTACTTCTGCTTACCTCTGTT	8776
sars197	TCTCTGTTACCTTCTACCTGTTTTTAACTGTGCTGTTGCAACATCTGCTACACACCTCCAAACCTCATG	8821
sars198	TGCTACACACCTTCCAAACACTGTGATGTTGCTGTTGCTAATCTGCTTGTGCTGCTGAGT	8866
sars199	TCTGCTGGCTTCTGCTGCTGATGTCATACATTTAAAGGATGCTGGGCAAACCTGTGCCATATTGTT	8911
sars200	ATGGCAAACCTGTGCTCATATTGTTAAGACACTTAATTGCTAGAGGGTTCTATTCTATAGTGACCTTC	8956
sars201	GGTCTTATCTTATAGTGCCTGTGCGAGACACTCGTATGTCATATGATGTTGTCATCATACAGT	9001
sars202	CTTATGGATGGTTCCATCATACAGTTTCTAACACTTACCTGGAGGGTTCTGTTAGAGTAAACATT	9046
sars203	GGTCTGTGTTAGTGTAAACACTTTGCTGAGTGTGACTGTAGACATGTGACATGGGAAAGGTCAGAAG	9091
sars204	CATGGTACATOCAGAACAGTGGAGTAGTGTGTTCTACACAGTGTAGATGGGTTCTTAATATG	9136
sars205	AGTGTGATGGTTCTTAAATAGACATACAGAGCTTACAGACTTACAGCTTCTGCTGCTGCTGCG	9181
sars206	GGAGTTTCTGTTGTTGATGCGGATGAATCTACATGCTAACATCTTCTCCTCTGCTGCAACCTGTOG	9226
sars207	TTTACTCTGTGCTCACCTGTGGGCTTCTTAACTGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG	9271
sars208	TCAGTAGTGGCTGGTGTATTATGGCATATTGGTACTGTGCTGCTGCTACTTCTATGAAATTGAC	9316
sars209	GCCTACTTCTTATGAAATTCAACAGCTGTTTGGTACTACACCATCTTGTGCTGCTAATGACCTT	9361
sars210	CATGTTGTTCTGTCTATGCACTTCTTGTGATGCTCTTCTACATACTCTGCTGCTGCTGCTGCTG	9406
sars211	ATACTCTGTGCTGGCTACAGCTTCTGCGGGAGTACTGCTACTGTGCTTCTGCTGCTGCTGCTG	9451
sars212	TGATCTTCTTACTGTGACTGACATCTTCTACCATGATGTTCTATCTTGTGCTCACCTCAATG	9496
sars213	TGATCTTCTGTGCTACCTTCAATGTTGCTGCTTCTCTTCTATGCTGCTTGTGCTGCTGCTGCTG	9541
sars214	GTGCTTTTGTGATAACACCAATCTATGTTATGTTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG	9586
sars215	AAGCACTGCCATTTGGTCTTAAACACTATCTTACGGAAAAGAGTCATGTTAATGGAGTTACATTGTA	9631
sars216	ATGTTTAACTGGACTTACATTGTTAGTACCTTCCAGGAGGCGCTTGTGCTTCTGCTACAAAGAAA	9676
sars217	TGCTGTTTGTGCTCACAAAGGAAATGTCACCTTAAAGGTTGCTGGGAGACACTGTGCTGCTGCTG	9721
sars218	GAGACACTGTCCTCACACTACAGTATGTCACCTTGTGCTCTATATAACAGTAAAGTATTGCTG	9766
sars219	TATAACAGTACAGTATTGCTGAGGCTTAAAGTACTACACGCTATGTCAGCTGAGCAGCTGCTG	9811
sars220	TATGCGAACAGCTTGTGCTGCACTTACGAAAGCTTAAATGACTTACCTACAGTACGTTGCTG	9856
sars221	TTTACGCAACTCAGGTGCTGATGTTCTACCAACACCACAGACATCACTCTGCTGTTCTGCCAGA	9901

sars222	TCAATCACTTCTGCTGTTCTGCAGAGTGTTTAGGAAATGGCATTCCGTAGGCAAAGTGAAGGGT	9946
sars223	TTCGGCTCAGGCAAAGTGAAGGGTCAAGTACCTGTCAGGAACTAACACTCTTAAATGGATTGT	9991
sars224	GGAACTACAACTCTTAAATGGATTGGTGGACAGACTAACACTCTTAAATGGATTGT	10036
sars225	TGTCAGACAGATGTCACTTGGCAGAGACATGCTTAACTATAGAAAGTCTGCAATGGCAGACAG	10081
sars226	AACATGAGACATGTCACTTGGCAGAGACATGCTTAACTATAGAAAGTCTGCAATGGCAGACAG	10126
sars227	GTTCAAGGGCTGCAATGTCACCTGGTGTATGGCATTCTGCAAAATGGCTGTTAGGCTTAAAG	10171
sars228	CAAAATTGTCGCTTGGCTTAAAGTGTACTCTTACCCCTAAGGACCCAAAGTAAATTGTCGCTTAA	10216
sars229	ACACCCAAAGTATAATTGTCGCTTAAAGTGTACTCTTACCCCTAAGGACCCAAAGTAAATTGTCGCTTAA	10261
sars230	TCAGTCTAGCATGCTCAACTGGTCACTGGTGTATCAGTGGCATGACACTAACATACCA	10306
sars231	TGTCGCGATGAGACCTTAACTTACCAATTAAAGGTTTAACTTAAATGGATCATGTTGAGTGTGTTTAA	10351
sars232	GGATCATGTTGAGTGTGTTTAACTTATGATGATGTTGCTGTTCTGTTATATGATCATATAATGG	10396
sars233	TCTTCTGCTATATGCCATATGAGCTTCCACAGGAGTACAGCTGCTACTGATAGAGGTTAAAT	10441
sars234	GCTGGTACTGACTTAGAGGTTAACTCTATGGTCACTTGTGCAAGACAAACTGCACAGGCTGCAGGT	10486
sars235	AGACAAACTGCACAGGCTGCAGGTACAGACACAAACATAACATTAAATGTTTGGCATGGCTGTATGCTG	10531
sars236	AATGTTTGGCATGGCTGTATGCTGTTATCATGGTGTAGTGGTTTCTTAAATGATTCACCAACT	10576
sars237	TGGTTCTCTTAAATGATTCACCAACTTGGTAACTTAACTTGTGCAATGAAACTAACATGAAAC	10621
sars238	GTGGCATGAGTACATGAACTTGGTCAACAGATCATGTTGACATATTGGGACCTTCTTCTGCTC	10666
sars239	GACATATTGGGACCTCTCTGCTCAACAGGAAATTGGCGTTAGATGTTGCTCCTTGGAAAGGC	10711
sars240	GATATGTTGCTGCTTAAAGAGCTGCTGCAGAATGGTATGATGGTGTACTATCTTGGTACACTA	10756
sars241	GTCGTAATCTCTGTTAGCACTATTGGAGATGTTTACACCTTGGATGTTGACATGCT	10801
sars242	CCATTGATGTTGTTAGCAATGCTGCTGTTACCTTCCAAAGGTAAAGTCAAGAAAATTGTAAGGCA	10846
sars243	AAGTTCAAGAAAATTGTTAAAGGCACTCATGGTGTCTTAACTTCTGACATCAATTGATTGATT	10891
sars244	ACTTCTGCTACTCATATTGATTCATGGTCAACAGTCACTGGTGTCTGTTTACGAGA	10936
sars245	TCAGCTTTCTTGTGCAATTGGTCAAGTCTTGGTCACTTCTGTTATATGGCAATTGCTG	10981
sars246	CTTGGTATTATGGCAATTGCTGCAATGCTGCTGTTGGTAACTCTCTGCTGACATGCTGCTTGT	11026
sars247	CATAAGCAGCCTTCTGCTGCTGTTGGTAACTCTCTGCAACAGTGGCTTACTTAAATGGCT	11071
sars248	ACAGTGTGTTACTTAAATGGCTCATGGCTCATGGTGTGATGCTTATCATGACATGGCTGAA	11116
sars249	ATGGCTATCATGACATGGCTGAATTGGCTGAACTACGTCGCTGTTAGGGCTTAAAGATGTT	11161
sars250	GGTATAGGTTAAAGGCTTATGTCGCTTAACTTCTGCTTCTTCTTCTCATGACAGCTCCCA	11206
sars251	TTCGCTTATTCTCATGACATGGCTGCTGCTTATGTCGCTGAGACTGTTGGCACCTGATGATG	11251
sars252	ACAGCTGGTTGGACACTGATGAAATGCTTACACTTGGTAACTTACGTTACTATGGTAACTTGTAGTC	11296
sars253	GTCTACTATGGTAACTGTTAGATCAAGCTTATTCATGTTGGCTTAACTTGTAACTCTAACT	11341
sars254	TTAGTATTCTGTAACCTCTAACTATTCCTGGTGTGCTGTTAGGACTATCTGTTTGGTACAGCTATAG	11386
sars255	ATCATGTTGGTAAAGGCTTATGTCGCTTAACTTCTGCTTCTTCTTCTCATGACAGCTCCCA	11431
sars256	TACCATGTTGGTAAAGGCTTATGTCGCTTAACTTCTGCTTCTGTTATGTCGCTTAAAGGCTTACT	11476
sars257	CTTGGTATTCTCATGACATGGCTTAACTTCTGCTTCTGCTTCTGCTTCTGCTTAACTTCTGCTTAACT	11521
sars258	CTTGGTATTCTCATGACATGGCTTAACTTCTGCTTCTGCTTCTGCTTCTGCTTAACTTCTGCTTAACT	11566
sars259	TATGACTACTTGGCTCTACACAAGAATTAGGTTATGAACTCCAGGGCTTTCGCTCTAACAGTA	11611
sars260	CAGGGCTTTCGCTCTAACAGTGTGTTAGGTTATGTCGCTTCAAGCTTAACTTAAAGTGTGTTGGTATTGGAG	11656
sars261	AACTTAAAGTGTGTTGGTATTGGAGTAAACCATGTTACAGGTTGCTACTGTCAGCTAAATGTCG	11701
sars262	GCTACTGCTGACTGAGTAAATGTCGCTGCTGCTACTTGGCTTCTGTTACTCAACCGTAACT	11746
sars263	AAATTGTCGCAACACTTAGAGTACTCTCTCAAAATTCTGGCACAATGTACAC	11791
sars264	AAATTGTCGCAACACTTAGAGTACTCTCTCAAAATTCTGGCACAATGTACAC	11836
sars265	GCAAAAGACACAACTGAGCTTGGAGAGATGGTTCTCTTGTCTTGTATCCATGAGGGTG	11881

sars266	TCTGTTTGTCTATOCATGCGGTTGCTGTAGGACATAATAGGTTGCGGAGGAATGCTGTATAACCGTG	11926
sars267	TGCCAGGAATGCTGTGATAACCGTGTACTCTTCAGGCTATTGCTTCAGAATTAGTTACTTACCATCAT	11971
sars268	TCAGAATTGTTGTTTACCATATAACCGGCTTATGCCACTGCGGAGGCTATGACCGGCTGTAG	12016
sars269	CAGGAGGCTTATGACCGGCTGTAGCTAAATGGTGAATTCTGAAGGTTCTCAAAAAGTTAAAGAAATCTT	12061
sars270	GTTCCTAAAGTTAAAGAAATCTTGTGGCTAAATCTGAGTTGACCGTGTGCTGCAAC	12106
sars271	TTTGACCGTGTGCTGCATGCAACCGCAAGTGTGAAAGATGCGCAGATCTAGGCAAGAGGCCAAAGTAATGCTA	12151
sars272	GATCAGGCTTATGCCAAATGTACAAACAGGCAAGATCTAGGCAAGAGGCCAAAGTAATGCTA	12196
sars273	AAAGGACCAAAAGTAACTAGTGTACAAACAAATGCTCTTCAACTATGCTAGGAACTTGTATAATGATG	12241
sars274	ATGCTTACAGGCTTGTAAATGATGCACTTAAACATTTACATGCAATGCGCTGTGTTGTTGTTCCAC	12286
sars275	AAATGCGCTTATGGTTGTTCTACATCATTCTGCTACAGGAGCCAATCTCATGTTGTTG	12331
sars276	ACAGCAGGCTAAACTCATGTGTTGTTGTTCTACAGGAACTTGTGATGTTAACACCC	12376
sars277	AAAGAACACTTGTGATGTTAAACACCTTACATCTGCACTCTGGAAATCCAGCACTGTTGATG	12421
sars278	TGGGAAATCAGCAGTGTGATGCCAGTACAGGTTCTACCTTGTGAAATTAACTGGACAATT	12466
sars279	CTTAGTGAAATTAACTGACAACTTACCCAAATTGGCTTGGCTTCTTATGTTACAGCTCTAAAGGCCA	12511
sars280	CTTATGTTACAGCTTAAAGGCCAACTGGCTTGTGTTAAACTACAGAATATGAACTGTTGAGTCCAGCAC	12556
sars281	AAATGAACTGATGCTTACGGACTACAGCAGTGTGTTGTTGCTGTTGAAACACAAACAGCTTGT	12601
sars282	GCTGTTACACACAAACAGCTGTGACTGTACATGCACTGACTTAACTTAACTTACAGGAGGTTA	12646
sars283	TACTATAAACTTGTGAGGGAGGTAGTTGTTGCTGCAATTACTACAGGACCAACAGATCTAACATTGG	12691
sars284	TCAGACCCAAAGATCTAACTGGCTGATTTCTAACAGTGTGCTACAGGTTACATTACAGAC	12736
sars285	GTTACAGGTACAAATTACACAGAACTGGAAACCCCTTGTGTTTACAGACACACCAAAAGGGCTA	12781
sars286	TTGACAGACACACAAAGGGCTTAAGTGAAACTACTGTTACTCTAACAGGCTTAAACAACTTAATA	12826
sars287	ATCAAAAGCTTAAACACAACTTAAAGGAGTATGGCTGGCAGTTAAGCTGCTACAGTACGTTCTTCA	12871
sars288	TTAGCTGCTACAGTGTGCTTCAAGGGCTGGAAATGCTACAGAAGTACTCTGCAATTAACTGTGCTTCT	12916
sars289	CTCGCCAACTTCAACTGTCTTCTCTGCTTGGCTAGTGGACCTCTTAAACCATATAAAGGATTAC	12961
sars290	CTCTGCTAAAGCATATAAGGATTACCTGCAAGTGGAGGACAAACATCACCACGTTGTAAGATGTTGT	13006
sars291	ATCAACAACTGTGTTGAGATCTGTTGATCACACACTGTTACAGGACAGGAAATTACTTAAACACAGAG	13051
sars292	CAGGCAATTACTGTACACAGGCTTACAGGCAACAGTGTGCTTGTGCTGTTCTCATGTTGCTGT	13096
sars293	TTTCGCTGCTTCTCATGTTGTTGTTGTTGAGCTTCAAGGCTTACAGGCTTACAGGCTTACAGGCTT	13141
sars294	CATOCAAATTAAAGGATTCTGTGCTTGTGAGGTAAGTGTGCTAACATCCACCTTGTCTAATG	13186
sars295	CAAAACTCTACCACTTCTCTTAATGACCGAGGTGTTTACACTTACAGAACACAGTGTGACCTCTG	13231
sars296	AGAAACACAGTGTGCTGACCGTGTGGAAAGGTTATGGCTGTGTTGACCAACTCGGGAAC	13276
sars297	TGTAGTGTGACCAACTCCCGAAACCCCTGTGATCAGTCTGGCGATCATCAACGTTTAAACGGTTTG	13321
sars298	GCATCACGTTTTAAACGGGTTGGGGTAACTGCGCTTACGGCCTGTTACACCGTGTGGCACAGCCACTAG	13366
sars299	TTACACCGTGTGGCACAGGCAACTGACTGTGTTGCTTACAGGCTTGTGATTTACAGGAAAGT	13411
sars300	CTTTGATATAACACAAAGGTTGCTGTTGCAAGGCTTAAACAACTAATTGCTGTGCTTCCAA	13456
sars301	TAACAACTAATGCTGTGGCTTCCAGGAGAAGGATAGGAAAGCAATTAACTTACAGTCTTACCTTGT	13501
sars302	ATTTTAGACTCTTACTTGTAGTTAAGNGCATACTATGCTAATCACCATGAGAGACTATTAA	13546
sars303	ACTACCAACATGAGAGACTTTTAACTTGTGTTAAAGATTGTCACCGGTTGCTGTCCATGACTTT	13591
sars304	CAGGGTTGCTGTGCTGACTGTTTCAAGTTGACTGATGATGTTGACATGACCGTACCCATATACAGCTA	13636
sars305	ACATGCTTACACCAACTTACAGCTGCGCTTAACTAAACACACATGCTGATTGTTGCTATGCTTACG	13681
sars306	TGGCTGTTAGTCTATGCTGTGCTTGTGAGGTTAATGCTGATCATTAAAGAAATACTG	13726
sars307	GTGATACATTAAAAGAAATACGTCACATATACTGCTGTTGATGATGTTATTCAATAGAAGGATTG	13771
sars308	ATGTTATTCTAAAGAAGGATTGGTATGACTCTGCTGAGGAATCTGACATCTTACCGCTATATGCTAA	13816
sars309	CTGACATCTTACGGGTATATGCTAACTTGTGAGGCTGTGACCGAATCATTAAAGACTGTACAATT	13861

sars310	AATCATTATTAAGACTGATAATTCTGGATGCTATGGGTGATGCAAGGATTGAGGCTACTGACATT	13906
sars311	CAGGCTTGATGGCTACTGACATTAGATAATCAGGATTCTAATGGACTCTGTAAGATTTCCGGTGTATT	13951
sars312	GGACTCTGGTACGGATTCTGGTGTGGTCAAGTGGACAGGCTGGGAGGTCTATGTGGATTCTATA	13996
sars313	CGGGAGTTCTATTGTGGATTCTATATTACTCTTCTGATCCCGATCTCTTGTACTAGGGCATTCG	14041
sars314	TCTCTACCTTGTACTAGGGCATTTGGCTGGTCACTGCTTCTGATCCCGATCTCTTGTACTAGGGCATTCG	14086
sars315	CTGATCTCGCAAACCACTTATTAAAGTGGATTCTGTAAGAATAGTATTAAAGGAGAGAGACTTGTCT	14131
sars316	ATTTTACGGAGAGAGACTTGTCTTGCACCTTATTAAATTTGGGACAGACATACCACTOCAA	14176
sars317	ATGGGACACAGACATACCATCCAAATTGTTACATGTTGGATGATGGGTATOCITCATTTGCAA	14221
sars318	ATAGGGTATCTCTTCTGTGCAAACTTAAATGTGTTATTTCTACTGTGTTTCACTTACAGTTTGG	14266
sars319	CTGTTTGTACCTACAACTTGTGGACCATCTAGAAAATATTGTAGATGGTGTCTTGTCT	14311
sars320	TTGAGATGGTGTCTTCTTGTGTGTTACCTGGACCATTTCTGTAAGGAGTGTCTACATAATCA	14356
sars321	GTGAGTAGGAGCTGTACATAATCAGGTGATAACCTACATGCTGGCTCAGTTCAAGACTTTT	14401
sars322	CGCGTCTCAGTTCAAGAACCTTGTGTGTTGCTGATGCGCTACATCCATGCGCTTCTGGCAATT	14446
sars323	CTATGCAITGCAGCTCTGGCAATTATGCTGATAAAACGACTACATGCTTTCTAGTAGCTGCACTAAC	14491
sars324	CATGCTTCTAGCTGGTCACTAAACAAACATGTGCTTTCTAACTGTCAAACCCGGTAATTTAA	14536
sars325	CTGTCACACCGGTTATTTAAAGACTTATGACTCTGCTGCTAAAGGTTCTTAAAGGAG	14581
sars326	TGCTAAAGGTTCTTAAAGGAGGAGTCTGTAACATAACCTCTTGTCTGAGGATGGCAA	14626
sars327	ACTTCTCTTGTCTGGAGATGGCAACGGCTCTACAGTGTATTAGTACTTATCTGTTAAATCTCCAC	14671
sars328	ACTTATATGTTATACTGCGCAACATGTGTGATATCAGACACTCTTACTGTGAAAGTGTG	14716
sars329	TCTTATCGTAGTTGATAATCTTGTGTTAGATGCTTACGATGGCTGTATAATGCCAACCA	14761
sars330	ATGGTGGCTGTATTAACTCCAAACAACTGTTGTAACATCTGATAAACTCAGCTGGTTCCATTAA	14806
sars331	ATTAATCGTGGTCTTCCATTAAAGGTTGAGCTAGTGTCTTAAAGGCTAGNTCTTATGACTCAATGATTA	14851
sars332	TTTATTATGCTCAAGTGTGTTAGAGTCAAGAATCATTGCTTGTGTTACTAACGTTATCTCTOC	14896
sars333	CTATACATAGCGTAAATGTCATCCCTACTATACAACTGAACTTAAAGTATGCCATTAGTGC	14941
sars334	TTAGTGTGCGATTAGTGCAGAAGAATAGCGCTCGACCGTGGTGTCTATCTGTAGTACTATGAC	14986
sars335	GTTGCTCTATCTGTAGTACTATGACAAATAGACAGTGTCTACAGAAATTATGAAAGTCAATGCCAAC	15031
sars336	AAATTATGAGTCAAATAGCGGCCACTAGAGGACTCTGTGTTATTGGACAAGCAAGTTACCGTGG	15076
sars337	TTGGACAAAGCAATTGCTTACGGTGTGGCTAAATATGTAAACCTTGTAACTGAGTGTAGMACTCC	15121
sars338	CTGTTTACAGTGTGTAAGAACCTCCACCTTGTGGGATTATTCACAAATGTGACAGACCCATGCG	15166
sars339	ATCCAAAATGTGACAGGCGATGGCTAAACATGCTTGTGTTAGATAATGCGCTCTCTGCTOCCAA	15211
sars340	CTCTCTTGTCTGGCGCAACATACACTGCTGTAACCTACACCGTTCTACAGGTTACTAA	15256
sars341	CACACGGTTCTACAGGTTAGCTAAGGCTGCGCAAGTATTAAAGTGGAGTGTCTGTCGGCGCTC	15301
sars342	GTGAGATGTGTCAGTGTGCGCTCAGTATGTTAAACCGGTTGGAACATCATCGCTGATGCTACAC	15346
sars343	GACATCATCCGGTGTGCTCAACAACTGCTTAACTAGTGTCTTAACTTGTGCTTACAGCTGTTACG	15391
sars344	TTACATTTGTGCTTACAGGCTTAAAGCCTGACAGTGTGCGCAATCTGACAGTGTAAAGTACGTGA	15436
sars345	CAACTGTGTTAAATAAGTAGCTGACAGTGTGCGCAATCTGACAGGCTCTATGACTCTCTA	15481
sars346	AAACACGGCTCTAGGTTCTATAGAAATAGGGATGTTGATCATGAACTTGTGATGACTTTAGCC	15526
sars347	ATGAAATTGCTGGTAGGTTTACCGTAACTCTGCTAAACATTTCTCATGATGTTCTGTGATGC	15571
sars348	CCATGATGATCTTCTGTGATGATGCGTGTGCTATAACAGTAACCTGCGCTCAAGGTTACTGCC	15616
sars349	ACTATCGGGCTCAAGGTTAGTAGCTGACTTAAAGACTTAAAGGCTGTTCTTATCTACAGTGTAA	15661
sars350	CGTTCTTCTTATACAAATAATGTTGCTATGCTGACAGGCTGAAATTGGACTGAGACTGACCTTAA	15706
sars351	TTGGACTGAGACTGACCTACTAAAGGACTCTCGAAATTGCTCACACATACATGCTACTTAA	15751
sars352	CACAGCATACATGCTGTTAAACAMGGAGATGTTAGCTGTACTGCCATTCCAGATCCATCAAGAAT	15796
sars353	TGCTTACCGAGATCATCAAGAATATTAGGGCAGGCTGTTTGTGCGATGATATTGCAAMCAGATGG	15841

sars354	TCGATGATATTGTCAAAACAGATGGTACACTTATGATTGAAAGGTTGTCACTGGCTATTGATGCTTA	15886
sars355	TCTGTCACACTGGCTATTGATGCTTACOCCATTACAAACACTCTAATCAGGAGTATGCTGATGCTTCA	15931
sars356	ATCAGGAGTATGCTGATGCTTACACTGTTAGTATTAACTATCATTAGAAAGTTACATGATGACCTTACITGG	15976
sars357	GAAGGTTACATGTAAGCTTACTGGCCACATGTTGGACATGTTAGCTGATGCTTAACTAATGTAACAC	16021
sars358	CGGATATGCTTAACTAATGATAACACETCAACGGTACTGGGAACCTGAGTTTATGAGGCTATGACACACC	16066
sars359	AGTTTTATGAGGGCTATGTAACACACCACATACAGTCTTCAGGCTGTAGGTCGTTGTGATGTCGAAATTC	16111
sars360	TAGCTGCTTGTGATTGTCAAATCAGACTCTACTTGTGCTGCTGTAGGACCTGTGTTAGGAGACATTCT	16156
sars361	GTGCGCTGTATTAGGAGGACATTCTCTATGTTGCAAGTGTGCTGTAGGACATGTCAATTCAACATCACAA	16201
sars362	AACTATCTTACATTCACACTTAACTTGTGTTCTGTTGATACCTTATGTTTCAATCCCCAGGTT	16246
sars363	CCATTGTTGCAATGCCCGAGGTGTTGATGTCAGTCACTGTTGACACAACTGTATCTAGGAGGTATGAGCTA	16291
sars364	AACTGATCTAGGAGGTATGAGCTTATTTGCAAGTCACATAGGCTCCATTAGTTTCAATTGAGCTATGTC	16336
sars365	CTCCATTAGTTTCAATTATGTGCTATGGTCAAGGTTGGGTTTATACAAAACACATGTGTAGGCAG	16381
sars366	TATACAAAACACATGTCAGGCACTGACATGTCAGTCACTGATCTCAATGGCAACCAACATGTGATGGAC	16426
sars367	ATGCCATACACACATGTCAGTCAACTATGCTGCCAACTATGCTGAGACT	16471
sars368	TTGGCAACACACTGTACTGAGAGCTCAAGGTTTCCAGCAGAMCGCTCAAGGCCACTGAGGAAACATT	16516
sars369	CCCTCAAGGACTGAGGAAACATTAAAGCTGCTATGCTGATGCTGACCTGTACGGGAACATCTCTGTA	16561
sars370	CCACTGTACCGGAAGTACTCTGTGACAGGAAATTGCACTTCTAGGGAGGTGGAAAACACTGACACCAC	16606
sars371	GGGAGGTTGAAAACCTAGACACCACTTGACAGAAACTATGCTTTAGCTGTTACCGTGTACTAAA	16651
sars372	TTACTGGTTACCGTGTACTAAAAAACATAAAGGACAGATTGAGGAGTACACCTTTGAAAAGCTGACTA	16696
sars373	AGTACACCTGGAAAAGTGTACTATGGTCACTCTGTTGTCAGAGGACTACACACATACAAGTTGA	16741
sars374	GAGGTACTACGGACATCAAGTGTGATGTGTTGACTTCTGTGACATCTCACCTGTAATGCOACT	16786
sars375	TGACATCTACATGTAATGCOACTTGTGCOCTCTAGTGGCCACAGGACTATGTGAGAATTAC	16831
sars376	CAACAGAGACTATGTCAGAACTTGTGGTTTACCCACACTCACATCTCAGATGAGTTTCTAGCA	16876
sars377	ACATCTCAGATGAGTTCTGCAATGTCGAAATTATCACAAAGGTCGGCATGCCAAAGTACTCTACACT	16921
sars378	TGGCGATCAAAGTACTCTACCTCAGGACACCCTGGTACTGTTAGAGCTATTGTCATCGGACT	16966
sars379	TTGAGGTACTTTCGCACTGGACTCTCTCTTCAATACOCCATCTGCTCCCATACTGCTATACGGCATGCTC	17011
sars380	CTGGCATATGTTGATACCGCATGCTCTACAGCTGCTGTTGATGCOCTATGTTGAAAGGCAATTAAATTATT	17056
sars381	TATGTCGAAAGGATTAAATTGTCGATGTTGATGAAATCTACCTGCOCCCTGCCCCCT	17101
sars382	GAATCATACCTGGCGTCCCCCTAGAGTGTGTTGATATAACCTAACACTAGACAGTA	17146
sars383	AGTGAAATTCAACACTGAAACAGTATGTTCTGCACTGTTGACATGAAATCTCTAGGCTAATTATGACTG	17191
sars384	CATGGCAGAACACCTGTCGACATGTTGACTGTTGATGAAATCTCTAGGCTAATTATGACTG	17236
sars385	CTATGGCTACTAAATTGACTGTGAGTGTCAATGCTAGACTCTCCOCAAACACTACGCTTATATTG	17281
sars386	GTGCAAAACACTGCTTATAGGCGATCTGCTTACACGGACCCCGCCACATTGCTGACTAAAGG	17326
sars387	CCCCCGCAGACTTGTGCTGACTAACAGGACACATGAAACAGAATTTCATGCTGAGACTTATGAA	17371
sars388	TTAACTCAGTGTGAGACTATGAAACAAATCTGCACTGAGATTTCTGGAACTTGTGCGGTGTGTC	17416
sars389	TCTTGTGAAACTTGTGGCGTGTGCTGTTAATTTGCACTGAGTGTGCTTATGTTATGACATA	17461
sars390	TGAGTGCTTATGTTATGACAATAAGCTAAAAGCACACAAGGATAAGTCACTGCTTCAATGCTTAAATGTT	17506
sars391	AGTCAGCTTCAATGCTTCAAAATGTTCTACAAAGCTGTATTACATGATGTTCTATCTGCAATCACAG	17551
sars392	ATGATGTTCTACATGCAATCACAGACACTAAATGGCGGTGTAGAGGAATTTCCTACACCAATCTGC	17596
sars393	GAGAATTCTTACAGCGCAATCTGCTGTTGAGGAGAAAGCTTGTCTACCTTATAATTCCAGAACCC	17641
sars394	TCTCACCTTATAATTCAAGAACGCTGTAGCTTCAAAATCTGAGTTGCTACGGACTGTGTTGATTC	17686
sars395	GATTCGCTACGGAGACTGTGTTCTACATCACAGGCTTGTGAAATGACTATGTCATATTCACACAACTAC	17731
sars396	ACTATGTCATATTCAACAAACTGAAACGACACACTTGTGAAATGTCACCGCTTCATGTGGCTAT	17776
sars397	ATGTCACCGCTTCATGTGCTATCACAGGCAAAATTGCGATTGCTATGTCATAATGTCGATAGAGA	17821

sars398	TTTGTCATAATTGCTGATAGAGATCTTATGACAACTTCAGTCATAAATACAGCTCG	17866
sars399	TTACAGTCAGAAATACCCCGCCTGCAATTGCGCTACATTACAGCAGAAATGTAACGACTTTAA	17911
sars400	CAGAAATTAACTGACTTTAAAGACTGTAGTAAGATCATTCTGCTTCATCTACACAGGACC	17956
sars401	CTGGTCTTACCTACACAGGCACTACACCCCTACGGCTTGTATAAAGGTCAGACTGAAAGTTATG	18001
sars402	TAAGTTCAGACTGAGGATTATGTTGACATACAGGCACTACAAAGGACATGACCTAACGGTACAGT	18046
sars403	CAAGGGCATACCTACCTAACCTGACTCTATGCTTGTATAAAGGAACTGCAATGCTTA	18091
sars404	AAATGAATTACCAAGCTATTGTTACCGCTTAATGTTTACOCCCGGAGAACTTATGTCACGGTTG	18136
sars405	GGCAAGAGCTATTGTCAGCTACGGTTCGCTGGTGGCTGTTATGAGGGCTGTATGCAACTAGAGA	18181
sars406	TAGAGGCTCTATCAGTCAGAGACTCTGCTGACTAACCTCTCCAGCTAGGATTTCCTACAGG	18226
sars407	CTTCAGCTAGGATTTCACAGGTTAACTTAGTACGTTACCTGGTTATGTCACACTGAAA	18271
sars408	CGACTGGTTATGTTGACACTGAAAATACACAGAACTTCACCGAGCTTAAACATCTTAAACCTCATGATAAAGGCTGCOCTG	18316
sars409	TTAATGCAAACCTCAGGTCAGCTTAAACATCTTAAACCTCATGATAAAGGCTGCOCTG	18361
sars410	CACTCATGTTAAAGGCTGCOCTGGAAATGACTGCTGTTAAAGATGTCAGTGTACACT	18406
sars411	TAGTCACAACTGTCAGTGTACACTGAAAGGTTGACAGACAGCTGTTGCTTGGCCCATGG	18451
sars412	TGTTGTCAGTGTCTTGGCGCATGCTTGGTGGCTTACATGTAAGACTCTTGTCAAGATTGGACCTG	18496
sars413	ACTCTTTGCAATTGAGCTGCTTAAAGGCTTGTCTGTCAGACAACTGCTTTCAC	18541
sars414	ACAAAGTCACACTGCTTACTCTACAGATACTTATGCTCTGGAACTCTGTTGTTG	18586
sars415	GCTGGAATCATTCCTGGGTTTGTACTATGCTATAACCAATTATGTTGATGTTGACCTGGT	18631
sars416	TGATTGATGTCAGCTGGGCTTAAAGGTAACCTTCAGTAACTGACCAACATTGGCAAGGTACA	18676
sars417	ACCATGACCAACATGCGACCTGACATGGAAATGACATGTGCTGTGTTGATGCTATCATGACTGATG	18721
sars418	GTGTTGATGCTATCATGACTAGATGTTGCTGACATGAGTGTGTTGAAAGGGCTGATTGTCCTGT	18766
sars419	TTGTTAACCGGCTGATTGTCGTTGATAACCTTAAAGGAGATGAACTGAGGTTAAATTCTGCTTG	18811
sars420	ATGAACTGGGGTTAAATTCTGCTTCAGAAAATGACACACATGGTGTGAAATGTCATTGCTTC	18856
sars421	TTGGAAGTCTGCATTGCTTGTATAAGTTTCAGTTCTCATGACATTGAAATCCAAGGCTATA	18901
sars422	ACATGGAAATCCAAAGGCTATCAAGTGTGTOCTCAAGGCTGAAGTAGAAATGGAAGTTCTACGATCTCA	18946
sars423	TAAGATGGAACTTCTACGATGCTCACCGCATGACTGACAAACCTTAAATAGGAAACTCTCTTATTC	18991
sars424	ACAAATAGGAACTTCTTCTTATGCTACACATGACATAATTCTGATGTTGTTGTTGTT	19036
sars425	AACTCACTGATGTTGTTGTTGTTGAAATTGAGTGTGTTTACCAACCAATGCAATTGTTG	19081
sars426	GTACCCAGCCAAATGCAATTGTTGAGTTGACAAAGACTGTTGAACTTACCGCTG	19126
sars427	TGTCAAACTGTAACCTAACCGCTGATGTTGTTGTTGATGTTGATAAGCATCATTCCACACTCC	19171
sars428	TGATAAACATGCAATTGACACTCTGGCTTGTGATGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT	19216
sars429	TGACTAAATTGACCAATTGCTTCTTACTTATGCTGATGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT	19261
sars430	CTTGAGTCTCATGCCAACAACTGTTGCGATATTGTTATGCTCATAAATCTGCTACGTTGAT	19306
sars431	TTCTACAACTACCTGCTTACGTTTACAGCTGCAATTGTTGCTGTTGCGACACCATGCCAA	19351
sars432	GTCTGTTGCAACACCCATGCAAATGACCTGAGACTCTGCTGATGCTATAATATGATGTCATTCTG	19396
sars433	ATGCTATATAATGATGTTCTGCTGGATTACCTTACGGTTAAACAAATTGAGTACTTAAACCT	19441
sars434	ACAAACATTGACTTATAACCTGGAATACATTACCGGTTACAGAGTTGAAATGTCGCTTAA	19486
sars435	TCAAGAGTTAGAAATGCTGCTTAAATGTTGTTAAAGGCACTTGTGACACGGCGGAAAGC	19531
sars436	ACTTGTGAGTGGACACCCGGGAACACCTGTTCTCATCTAAATGCTGTTTACAAAGGTAGATGG	19576
sars437	ATGCTGTTGACACAGCTGCAAATGACCTGTTGAGATCTGTTGAAATAAGACAACACTTCTGTTAA	19621
sars438	AAAATAAGACAACCTCTGTTGACCTGGCTTACGGTTACACATTAAACACTGTC	19666
sars439	CTAACGCTAACATTAAACAGCTGCGAGATTAGATCTCAATAATTGTTGTTGTTGATATGCTGCTTAA	19711
sars440	ATTTGGGTTGATGATGCTGCTAATCTGTAATCTGCTGAGACACATGCTGCTTAA	19756
sars441	AAAGAGAAGCCCCAGCACATGTCATAATAGGTTGCTGCAACTGACTGCAATTGCGCAAGAACCTAC	19801

sars442	TGACTGACATTGCCAAGAACCTACTGAGAGTCTTCTTCACTTACTGCTTGTGATGGTAGACT	19846
sars443	TTACTGTCTTGTGATGGTAGCTGAGGACAGCTAGACCTTTAGAACGCCGTAATGGTTTT	19891
sars444	TTAGAACCCCGTAATGGTGTTTAAACAGAAGGTTCACTGCAAGGCTAACACCTAACAGGAC	19936
sars445	AAAGCTTAAACACCTTCAAGGGACAGCACAACTGAGGTCAATGGACTCACATTAAATTGAGAATCAGT	19981
sars446	GAGTCACATTAAATGGAGAATCAGTAAAMACACAGTTAACACTTTAACAGAAACTAGACGGCATTTCA	20026
sars447	TTAACAAAGTAGACGGCATTATTCACAGCTGGCTGAAACCTACTTAACTCAGGAGAGACTTAGAGGA	20071
sars448	TTACTCAGAGCAGAGACTTAAAGGGATTAAAGCCAGATCACAAATGAAACTGACTTTCTCGAGCTCG	20116
sars449	TGGAACACTGACTTTCTCAGCTCGGATGGATGAACTCATACAGCGATAAACTGAGGGCTATGGCT	20161
sars450	GATATAAGCTCGAGGGCTATGCCCTTGAAACACATCGTTATGGAGATTCTAGCTCATGGACACTTGGCGG	20206
sars451	ATTCAGCATGGCTCTTCTTATGAGCTTACATGGCTTACAGGCTTACAAAGATTTCAC	20251
sars452	TAGCCAAAGCCTCACAGATTACACATTAAATTAGGAGTTTACCTCTATGGACACAGTGAAMAA	20296
sars453	TOCTCTATGGACGACACAGTGAAMAAATTACTTAAACAGATGCCAACAGGTTCATCAAATTGTC	20341
sars454	AAACAGGTTATCMAATTGCTGTTCTGATGTTACTTGTGACTTTCTGAGATAATGAGATAATAMA	20386
sars455	TTGATGACTTTGTGAGATAATAAAGTCACAGATTGCTAGTAACTTCAAAAGTGTCAAGGTACAAAT	20431
sars456	TTTCMAAAAGTGTCAAGGTTACATTGACTATGCTGAAATTCTTACATGCTTGGTGTAAAGATGGACA	20476
sars457	TCATGCTTGGTGTGAGGATGGACATGTTGAAACCTTACCCMAACTACAAGCAAGTCGAGGGTGGCA	20521
sars458	AACATACAGAACATGAGCTGGTGCACACAGGTGTTCCATGCTAACTGTACAAAGATGCAAAAGAAATCT	20566
sars459	ACTTGTACAAAGTCAAAAGATTGCTCTGAAAGTGTGACCTGAGATTATGTCGAAATTGCTTAT	20611
sars460	AGAAATTATGCTGAAATTGCTTTACCAAAMGGATAATGATGATGTCGAAAGTAACTCAACTGTC	20656
sars461	ATGTCGCAAAAGTAACTACTCACTGTCATACATTAAACACTTAACTTAACTTGTGTAACCTACAAACATGAG	20701
sars462	CTTTAGCTGACCATCACACAGGACTTACATCTTACCTTGTGTCGTCGCTGATAAAGGAGTTGGCACAGG	20746
sars463	GCTCTGATNAAGGACTTGGCACAGGTTACAGCTGTCGTCGACACATGGTGGCAACACTGTC	20791
sars464	GTTGCGCAAGTGCACACTTCTGTCATGCTTAACTTGTACTTGTGTCGAGGCAATTTCTACTTT	20836
sars465	TGTTCTCGAGGCCATTTCTACTTTAACTGGGACTCTGGCAACAGTACATAGGCTATAATTGGGACCT	20881
sars466	TACATACGGCTTAATATTGGGACCTTATTATGGGATATGATGACCTTACGGGACAAACATGTGACAAA	20926
sars467	ACCTTAGGACCAAAACATGTCGACAAAAGGAAATGACTCTAAAGAGGGTTTCACTTATCTGTCGATT	20971
sars468	GTTTTTACTTACTTCTGTCGATTATAAAGCAAAACACTGGCTGGGTTGTTCTATACTGTCGAAAGAT	21016
sars469	TGGTTGTCCTATGCTGATGATAACAGAGCATTCCTGAGATGTCGACACTTTCAGCTTAAAGCTTATGGCGCA	21061
sars470	CTGACCTTAAACAGTTATGGGCTATTCTCATGGGACAGCTTTGTTACAAATGAAATGTCATCATC	21106
sars471	TTGTCACAAATGTAATGTCATCATCGGAAAGCTATTGAGGCTAACTATCTGTCGAAAGCGGA	21151
sars472	GGGCTAACTATCTGGCAAGCGAAGGAACAAATTGATGCTTACATCATGCTAACTACATTTCTG	21196
sars473	CCATGCGATGCTAACTACATTCTGGAGGACACAAACATGTCGTTCTTACATCTGTCGTT	21241
sars474	ACTTGTCTTCTATTCATCTTGTGACATGCGAAATTCTTCAAAATTAGAGGAACTGCTGTAATGTC	21286
sars475	AATTAAAGGAGCTGCTGTAATGTCCTCTGAGGAAATCACATCAATGATGATGTTTCTCTCTGGA	21331
sars476	ATGATGATGTTTCTCTCTGAGGAAACAGCTTACATGAGAAAACACAGAGTTGTGGTTTC	21376
sars477	GAGGAAACACAGGTTGTTCAACTGATATTCTGTCATACACTAACGACATGTTTATTCTT	21421
sars478	ACTAAACGACATGTTTATTCTTAAATTCTTACTCTCAGACTGAGTGTGACTCTGACCGTGCAC	21466
sars479	CTGGTAGTGCACCTGGCACGGTGCACCAACTTTGATGATGTCGTCGCTTAACTACACTCACACTTC	21511
sars480	CTCTAAATTACACTCAACATCAACTTCTGAGGGGGGTTACTATCTGATGAAATTTTAGATCAGA	21556
sars481	ATCTCTGATGAAATTCTTATGTCACAGACACTTCTTAACTCTGAGGTTTACTCTCCTGTTCTAA	21601
sars482	ATTATTCTCTTCTTACTTATGTTACAGGTTTACATTAATCATGCGTTGGCAACCGTGT	21646
sars483	TTAACTCATAGTTGGCAACCGTCAACTCTTAAAGGAGTTTATTCTGTCGACAGAGAAATC	21691
sars484	TTTTTTGTTCTACCATGAAACAACAGAGAAATCAATGTTGTCGTTGGTTCTACCATGACACAA	21736
sars485	TTTTGGTTCTACCATGAAACAACAGTCACACTGAGTTGATTAATTAAACATTCTACTAATGTTTAT	21781

sars486	TTAACAACTTACTAATGTTATAAGGCACTGAACTTGTGACAAACCTTCTTTCCTGT	21826
sars487	TGTGTGACACCCCTTCTTGTGTTAACCCATGGTACAGACACATACTATGATATTGATAA	21871
sars488	AGACACATACTATGATATTCAAATTCGAACTTTCAGACTACATCTGATGCTCTTCCCT	21916
sars489	AGTACATATCTGATGCCCTTGGCTGTAGTTGAGAAAGTCAGTAATTAAACACTAACGAGAGTT	21961
sars490	GTAATTAAACACTACAGAGTTTGTGTTAAAAAATAAAGATGGTTCTCTATGTTAAAGGCTA	22006
sars491	GGTTTCTCTATGTTATAAGGCTATCAACCTATAGATGTGTTGCTGATCACTTCTGGTTAACAC	22051
sars492	GGTACATCTACCTCTGTGTTAACACTTGAACCTTAAAGTGTGCTCTGGTATTAACATTACAAA	22096
sars493	TGCTCTTGTGATTAAACATTACAAATTAGGACCTTCTACAGCTTCACTTAAAGCAGATTTG	22141
sars494	CCTTCTAACCTCAAGACATTGGCCGACCTCNGCTCAGCTATTGTTGGCTATTAAACCCAAAC	22186
sars495	ATTGTTGCGTATTAAAGCCTAACATTATGCTCAAGTATGTTGCTCAAATCACAGATGC	22231
sars496	ATGAAAATGGTACAATCACAGATGCTGTTGATGTTGCTCAAATGACTCAAATGCTCTGT	22276
sars497	CACTTGTGAACTCAAATGCTGTAAAGCTTTGAGATTGACAMAGGAAATTAAACGACCTCTAATTT	22321
sars498	AGGAATTACAGGACCTTAATTTCAGGGTTTCCCTCAGGACATGTTGAGATTGCTTAATTAC	22366
sars499	ATCTTGTGAACTTCCCTAATTACAAACTTGTGCTTTGGAGAGCTTAAATGCTACTAAATTCC	22411
sars500	AGGTTTATGCTAACTAAATTCTGTGTTGCTGATTACTCTGCTGCTGAGGAAAMAAATTCTAATTGTGTTG	22456
sars501	AAAAAAATTTCTAATTGTTGCTGATTACTCTGCTGCTGCTAACACTAACCTTCTAACCTTAA	22501
sars502	ACTCACATTTCACCTTAAAGCTGATGCGCTTCTGCACACTAAGTGAATGATCTTGTCTTC	22546
sars503	CTAATGAAATGATCTTGTCTCTCAATGCTATGCAAGATTCTTGTAGTCAGGAGATGATGTAAG	22591
sars504	TTTGTGCAAGGGAGATGTTAAAGCAAATAGGCCAGAGCAACACTGGTTATTGCTGTTATAATTAA	22636
sars505	CTGGTGTATTGCTGTTATAATTAAATAATTGCTGCAAGATGTTCTGTTGCTGCTGTTGGAATAC	22681
sars506	TGGGTGTTGCTCTTGTGTTGTAATAGGAACTTGTGATGCTACTCTGTAACCTGTAATTATAATTAAATA	22726
sars507	CAACTGGTAATTAAATTAAATAATTAAATGTTGATGATGAGCTACAGGCTTGGOCCTTTGAGAGAGACAT	22771
sars508	ACCTTAGGCCCTTGAGAGAGACATACTAATGTTGCTCTCCGAAACCTTGTGCGCAAACCTTGCACCCAC	22816
sars509	CTGATGGCAAACTTGCACCCAACTGCTCTAATTGTTATTGCGATTAAATGTTATGGTTTACAC	22861
sars510	CATTAATGATTATTGTTTACACCAACTGCGATTGCTAACCTACAGAGTTGATGTTCTTC	22906
sars511	ACCTTACAGAGTTGACTTCTTGTGACTTTAACGCTTTAAATGCAAGGCCACGGTTGAGCCAAATT	22951
sars512	CTGGCTTGTGTTGGACCAAAATTATOCAGTCACTTAAAGAACAGTGTGCAATTAAATTAA	22996
sars513	ACACTGTTGCTATTAAATTAAATGACTCTGTTGCTGTTTAATCTCTTCTCAAGAATT	23041
sars514	TGTTAACTCTTCTTCAAGAATTGTTACCTTCAACATTTCGCGCTGATGTTCTGATTTCTG	23086
sars515	GGCGTGTGTTCTGATTTCACTGTTGCGTTGAGATCTAAACATCTGAATTAGACATTCTAAC	23131
sars516	CATCTGAAATTAGACATTTCACCTGCTGCGTTTGGGGCTGTAAGTGTAACTACCTGGAAACAAATGC	23176
sars517	GTGTTAAACACCTGGACAAATGCTCTATGCAAGTGTGCTGTTCTATACAGATCTTAACTGCACTG	23221
sars518	TATATCAAGATGTTACTCACTGTTCTACGGCTATCAGCACTTGTGCTGCAACCTCACCCAGTGGCG	23266
sars519	CGACATCAACTCACGCTTCTGGCCATTATATTCTACTGAACTTGTGCTGCAAGCAGGCT	23311
sars520	ATCTTACCGACTCAAGGCTTCTTATAGGAGCTGAGCTGATGCTGACACTCTTATGAGTGGCCAT	23356
sars521	TGACACTTCTTGTGACTGCACTTCTTGTGAGCTGCTGCTGTTGCTAGTACCATACAGTTCTT	23401
sars522	GTGCTGTTACCTACAGTTCTTATTCAGTGTACTAGCCMAAATCTATGCTGTTACTATGTC	23446
sars523	AATCTATGTTGCTTATCTATGCTTGTGCTGATGTTCAATGCTACTCTTAATAACACCATTC	23491
sars524	TGCTTACTCTAAACACCATTCGCTTATACCTCTAACTTTCAATTACCTTACAGAGTAACTCC	23536
sars525	TTAGCATTACTAGAGAATGTCGCTGTTCTATGGCTAAACCTGGTAGATTGTAATATGTCATCTG	23581
sars526	CCCTAGATTGTAATATGTCAGCTGCGGAGATTCTACTGCTGCTAATTGCTTCTCCAAATATGGTAG	23626
sars527	CTAATTGCTTCTCCAAATGCTAGCTTTCGACACAACTAATGCTGACTCTCAAGTATTTGCTG	23571
sars528	GTGCCACTCTCAGGTTGCTGCTGACAGGATGCGAACACACCTGAGGTTGCTCAAGTCACAAAT	23716
sars529	AGTGTGCTCAAGTCACAAATGCAAAACCCCAACTTGTGAAATAATTGCTGTTTAAATTTC	23761

sars530	ATATTTTGGTTTAAATTTTACACAAATATTACCTGACCTCTAACCCAACTAACAGGTCTTTAT	23806
sars531	TAAGGCCAACTAAAGGGCTTTTATGGAGACTTGCTCTTAAATAGGTGACACTGCTGATGCTG	23851
sars532	AGGTGACACTCGCTGATGCTGCTTCAAGACAAATAGGGCAATGCGTAAAGGTATAATGCTGAGA	23896
sars533	GCCTAGGTGATATAATGCTAGAGATCTATTTGCGAGAAGTCAATGCACTTACAGTGTCCACC	23941
sars534	TCATGGACTTACAGTGTGACCTCTGCTACTGTATGATGTTCTGCTACACTGCTGCTCTAGT	23986
sars535	TTGGCTGCTACACTGCTGCTCTAGTTAGTGGTACTGCGACTGCTGATGGATGGACATTGGTCTGGCCCTGC	24031
sars536	GATGGACATTGGTGTGGGCTGCTCTCAAAATACCTTGTGCTATGCAATAGGCTATAGGTTCAATGG	24076
sars537	TGCAATGGCATATAGGGTCAATGGGTTACCAAAATGTTCTATGAGAACCCAAACAAAT	24121
sars538	TTCTCATGAGAACAAAAAACAAATGCGCAACCCATTAAACAGGCAATTGCAATTCAAGAATCACT	24166
sars539	CGATTAGTCAAATTCAAGAACTACTAACMCACATCAACTGCATTTGGCAAGCTGCAAGACGTGTTAA	24211
sars540	TGGGCAAGCTGCAAGCGTGTAAACCGAATGCTCAAGCTTACACAACTTGTGTTAACCAACTTAGCTC	24256
sars541	ACACACTTGTAAACAACTTACCTCTTAATTTGGTCAATTTCAGTGCTAAATGATATCCTTCCCG	24301
sars542	GTGTCGAATGATATCTTGTGGACTGTGATAAGTCGAGGCGAGGTACAAATTGACAGGTTAAATTAC	24346
sars543	AGGTCAAACTGAGCAGCTTAAACAGGCGCTCAAAAGCTTAAACCTATGTAACACAAACAACTAA	24391
sars544	AAACCTATGTAACAAACAACTATCAGGGCTGCTGAATCAGGGCTTCTGCTAATCTTGCTGCTACTAA	24436
sars545	CTTCTGCTAATCTGCTGCTACTAAATGTCGATGTTGTCGACAACTAAAGAGTTGACTTTTG	24481
sars546	GACAATCAAAAGAGTGTACTTTGTGAAAGGGCTACACCTTATGCTTCCACAAAGCACCCCCA	24526
sars547	TGCTCTTCCACAAAGCAGCCCGCATGGTTGTCCTCATGTCAGTGTGCACTGGAGAG	24571
sars548	TCAGGTATGTCACATCCAGGAGAGAACCTTACACAGGCCGCAATTGTCATGAGGCAAACCCATA	24616
sars549	CAATTGTCATGAGGCAAAAGCATACTTCCCTGTAAGGTGTTTTGTGTTAAATGGCATTCTTGTGTT	24661
sars550	TGTTGTTAAATGGCACTTCTGGTTTATACAGAGGAACTTCTTCTCCACAAATAATTACTACAGA	24706
sars551	TTCTTCACAAATAATACAGACAAATCATTTCTCAGGAAATTGATGATGTTGCTCAT	24751
sars552	ATTGATGATGTTATGGCATTTAACACAGTTATGATCTCTGCAACCTGAGCTTGTCTATT	24796
sars553	CTCTGCAACCTGAGCTTCACTCATTAAGAGACTGGCAAGACTTCAAAATCATACATCACCAGA	24841
sars554	ATTCACAAATCATACATCACAGAGTGTGATCTGGCAATTTCAGGATTAAAGCTTCTGTGCTAA	24886
sars555	CAGGCAATTAGGCTTCTGCTCAACATCAAAAGAAATGTACGGACCTCATGAGGTOGCTAAAAATT	24931
sars556	GGCTCAATGAGGCTGCTAAATTTAAATGATCACTTCACTGACCTTCAAGAATTGGAAAATATGAGCA	24976
sars557	TTCAAGATGGGAAAATACAGCAATTATTTAAATGGCTTGTGTTGCTGGGCTCATTCCTGG	25021
sars558	ATGTTGGCTGGCTTCAATTGGTCACTATTGGCATGTCATGTTACAAATCTGCTTGTGCTAC	25066
sars559	TTACAAATCTGCTTGTGCTGACTAGTTGCTGAGTTGCTCAAGGCTGCACTCTGCTGTTGCTTC	25111
sars560	AGGGCTCATGCTCTGCTTGTGCTCAAGGTTGATGGAGACTCTGAGGCTCAAGGGTGT	25156
sars561	ACTCTGAGCCAGTCAACGGGTGTCAAATTACATACACATAMAGCAACTTATGATTGTTATGAGA	25201
sars562	CGACAGTATGGATTGTTTATGAGATTTTACTCTTGGTCACTGCAAGCAGTAAAATTGAC	25246
sars563	TACTGACAGGCAAAATTGACAACTGCTCTGCTACTTCTGCTATGCAAGCAACGATACCG	25291
sars564	TGTCATGCTACACCACTACAGCGTACACCCACTACCTTCTGGATGGCTGTTATGGGGTTC	25336
sars565	CGGATGGCTGTTATGGCTGCTTCTGAGGCTACACAAATAATTGGGCTCAAT	25381
sars566	CCCTACCAAAAATTGGCTCAATAAAAGATGGCAGCTGGCTTAAAGGGCTTCAGTCATTG	25426
sars567	TTATAGGGCTTCCAGTCAATTGGCAATTACTCTGCTATGCTTGTGCTATTCACATCTTGT	25471
sars568	TACCATATTCACACATTCTGGTGTGCTGCGTCAAGGTATGAGGCGCAATTGTTACCTCTATGCTG	25516
sars569	GCATTTTGTACCTCTATGCGTATATTTCACATGCAACCCGATGAGAATTATTGAGA	25561
sars570	CAAGCGATGAGAAATTATGAGATGTTGGCTTGTGAGGCTGCAATGCAAGAACCCATTACTT	25606
sars571	CAATTCAAGAACCCATTACTTATGATGCAACTTCTGTCACACACATAACTATGACTAC	25651
sars572	CTGGCACACACATAACTATGACTACTGTACACATATACACATGTCACAGATACATTGCTGTTACTGAA	25696
sars573	CACAGATAACATTGCTGTTACTGAGGTGACGGCATTCAACCAAACTCAAGAAGACTACAAATT	25741

sars574	AAAACCTAAGAAGACTACCAAAATTGGTGTATTCTGAGGATAGGCACACTAGGTGTTAAAGACTATGTC	25786
sars575	GCACCTCAGGTGTTAAAGACTATGTCGTTACATGGCTATCAGGAAAGTTACTACAGGCTTGACTCT	25831
sars576	CGAAGTTTACTACOACGGTGGACTCACAAATTACTACAGACACTGTTATGAAATGCTACATTCTTC	25876
sars577	TGGTATTGAAAATGCTACATTCTTCATTTAAACAGCTTGTAAAGACOCAACGGAAATGCAAAATACAC	25921
sars578	AGACGCCACCGAATGGCAAATCACAAATCGACCGGCTTCAGGACTGCTAAACACAAATGGATCCA	25966
sars579	AGTTGCTAATCCGCAATGGATCCAATTATGAGGCGACGACTACTAGCGTGTCTTGTAAAGCA	26011
sars580	GACTACTAGCGTGCCTTGTAAACGACAGAAAGCTGAGTACCGAACTTATGACTCATGCTTTCGCAAGAA	26056
sars581	TATGACTCATTTGTTGCGAAGAAACAGCTGAGTAAAGTAACTACCGTACTCTTTCTTTCTT	26101
sars582	TACGCTACTCTTTCTGCTGTTCTTGTAGTACAGCTACAGCTTCTACCGCTTCGCTTG	26146
sars583	ACTGGCATCTACTGCTTGTGCTTGTGCTGACTGCTGCAATTTGTAAACGTGAGTTAGTAAA	26191
sars584	TATTTTAACTGTGTTAGTAAACCAACGGTTACGCTACTTCGCGTGTAAAATCTGACTCTTCT	26236
sars585	GGGTGTTAAAATCTGAACTCTCTGAAAGGTTCTGATCTCTGCTAAAGCAACTATTATTA	26281
sars586	GCTCTAAACGAACTAACTATTATTTATCTGTTGGAACTTTAACCTGCTTACATGGCAGACACG	26326
sars587	ACATTGCTTATCGGACAGAACCGCTACTTACGGTGAGGACGTTAAACAACTCTGGACAAATGGA	26371
sars588	CTTAAACAACTCTGGACAACTGGACACTTAATGGTTTCTTCTACGCGCTGGATTATGTTACTAC	26416
sars589	TTCTGACCTGGTGGATTATGTTACTAACTTGGCTTCTACGAACTGGTTTGTACATAAAGC	26461
sars590	AAACGGTTTTGTCATAATAAAGCTTGTGCTTCTGCGCTTCTGGCCAGTAACACTGCTTGTG	26506
sars591	TGGCCAGTAAACACTGGCTGTTTGTCTGCTGCTCTACAGATAATTGGTCACTGGGGGATTG	26551
sars592	ATTAATTGGGTGACTGGCGGATTGGATTCGCAATGGCTTGTTCTAGGCTTGATGTCGGCTTAGCTACT	26596
sars593	GTAGGCCTTGATGTCGCTTACCTACTCTGTTCTCTCCTACGGCTTCTGCTCTAACCGCTCAATGTCG	26641
sars594	TTTGTGCTGATCAGGCTTCTGGTCAATTCGGACAGGAAACAAACATTCTCCTACATGTCGCTCTCCGGG	26686
sars595	ATTCCTCTCAATGTGCTTCTGGGACAGGCTTCTGGACAGGACCGCTCATGGAAAGTGAACTTGTCTTC	26731
sars596	CTCATGAAAGTGAACCTTCTGGTCTGTCATTTGTCATTTGCAATTTGCAATGGCGGACACTCC	26776
sars597	CACCTGGGAATGGCCGGGACACTCTCTGGGCTGTCGACATTAGGACCTGCTCCAAAAGAGACTCTGTG	26821
sars598	GACCTGCAAAAAGAGATCACTGTGCTCATCACAGAAAGCTTCTTATTACAAATTAGGAGCTGGCAGC	26866
sars599	TATACAAATTAGGAGGCTGGCAGGCTGAGGACTGATTCAGGTTTCTGCTACATACCGTAACCGTA	26911
sars600	TTTGTGCTCATCACACCCCTACCGTATGGAAACTATAAACAGACACGCCGGTACCAACGACA	26956
sars601	ACAGACAGCAGCGGATCACACAACTATTTGGCTAGCTACAGCTACAGATTTTCTT	27001
sars602	TAATGCAACAGATGTTGTTCTTGTGACTCTTCAGGTTCAATACGAGAGATAATGAAATTCTATT	27046
sars603	ACCGAGAGATATTGATTATCAATTACGAGACTTCTGAGGTTTCTGACCTTATAAAGT	27091
sars604	TTGGAATCTGAGGTTATAAACTGTCAGAACATTATTTAGGCTCTAATAGAAGAATTAT	27136
sars605	TAACCCCTCAACTAAGAAGATTATTCGGAGTTAGTCATGAGAACCTATGGAGTTAGGATTCATAA	27181
sars606	ACCTATGGAGTGGATTATCCATAAAACGACATGAAATTATTCCTCTGCTGACATTGATTTGATTTC	27226
sars607	TCTTCTGACATTTGTTATTACATCTGCTGAGCTACTACATAACTAAAGAACCTTGGCTACAGGAGTGTAGGTAAGC	27271
sars608	ATCAGGAGTGTGTTAGGGTACGGCTGACTACTAAAGAACCTTGGCTACAGGAACTACAGGGGCAA	27316
sars609	GGCCATCAGGACACATAGGGGCAATTACCTTCAACCTTCAACCTTGGCTGACAATAAAATTGGACTAACCTG	27361
sars610	CTGACAAATAATTCTCAACTACCTGCAACACTACCTGCTTGTGCTGAGGCTACTCGACA	27406
sars611	TTGCTTGTGCTGACGGTACTGACATACCTACACTCGCTGGCTGCAAGTCAGTGTACAAAACCTTCT	27451
sars612	GATCAGTTTCAACAAACATTTCATCAGACAGAGGGGTTGACAGAGGCTTACAGGCTTACTGCGCACTTTCT	27496
sars613	AAGAGCTACTGCGCATTCTTCTGCTGTTGTTGTTACTTGTGCTTACACCTAA	27541
sars614	TTTAATACTTGTGCTGACCTTAAAGAGAAAGAGACATGAGTGGCTACTTATGACTCTTATTTG	27586
sars615	GCTCACTTAACTGACTCTATTGTCCTTGTGCTTACTCTGCTTAAATAGCTTATT	27631
sars616	ATTCCTGTTTAAATACCTTATTATTTGGTTTACTGAAATGAGGATCTAGAGAACCTG	27676
sars617	ATCCAGGATCTAGAAGAACCTTGTACCAAGTCTAAACGAACATGAAACTCTCATTTGACTGT	27721

sars618	GAAACTTCTCATGTTTGTAGCTTGTATTCCTATGCCAGTTCATATGCCACTGTAGTACAGCGCTGCA	27766
sars619	ATGCACTGTAGTACAGCCCTGTCATCTAAACCTATGCCACTGTGCTGAGATCCTTGTAGGTAACACAC	27811
sars620	TGAAGATCTTGTAAAGGTACACACATAGGGGTATCTTATAGCACTGTGCTTGTAGGTTCTAGCAA	27856
sars621	CTGCTTGGCTTGTCTAGAAAAGGTATCTTCTATGATGCCACACTATGGGTCACACATGCA	27901
sars622	GGCACACTATGGTCAAAACATGCCACACAACTATGGTACTATGCACTGTCAAGATCCAGCTGGTGGCGCT	27946
sars623	GTCAGAATCCAGCTGGTGTGGCTTATAGCTAGGTGTTGACCTTGTAGGTCACCAAACTGCTGC	27991
sars624	TTCATGAAAGGTACCAAACTGCTGATTTAGGAGCTACTGTGTTTTAAATAGGACACAAATTAAA	28036
sars625	TTTAAATTAACGAAACAAATTAAAATGCTGTAATGGACCCCACTCAACACCAAGTGTGCCCCCGCA	28081
sars626	TCACACACAGTGTGGCCCGCATTCATTTGGGACACAGATTCACAGCAATAACCGAAATG	28126
sars627	GATTCACACTGACAAATACAGAATGGAGCAAGCAATGGGGCAAGGCCAACAGCGCGAACCCAGTT	28171
sars628	CCAAAACGGCGGACCCAGGTTACCCATATAACTGCGCTTGTGCTACAGCTCTACTCAGCATG	28216
sars629	TGGTTCACAGCTCTACATGCCATGGCAAGGGAGACTTAGATTCCCTGAGGCCAGGGGTTCCAATCA	28261
sars630	CCTGGAGGCCAGGGCTTCAACACAACTATGTTGCAAGATGACCAAAATTGGCTACTACCGAAGAG	28306
sars631	GACCAAACTGGCTACTACGGAGGACTCAACAGAGCTGGTGTGGTGTGACGGCAAAATGAAAGACTCA	28351
sars632	GGTAGCGGCAAAATGAAAGGCTGACGGCCAGGATGTGTTACTCTTATACCTAGGAACGGCCAGAGCTT	28396
sars633	TACCTAGGAACCTGGCCCAAGCTTCCACTGGCGCTTACAAAGAAGGCCATGTTAGGGTTCAGGAA	28441
sars634	AAAGAAGGACATGCTATGGTGTGCAACTGGGGAGCCTTGAATACACCCAAAGCACATGGCAACCGCA	28486
sars635	CCCAAGAACACATTGGCACCGCAACCTAAACATGCTGCCACCGTCTACAACTCTCANGAA	28531
sars636	ACCGTGTCAACACTCTCAAGGAACACATTGGCAAAAGGTTCTACGGAGGCCAACGGAGGGCCA	28576
sars637	TACCGAGGGAAGGCAAGGGCGGACTGCAACCTCTCTGCTCTCATACGCTACTGGGTTAACTCAA	28621
sars638	TCATCACTGTGCGGTTATTCAGAAATTCAACTCTGCGACTCTGGCGACAGTGGGGAAATTCTCTGCGAA	28666
sars639	AGTAGGGGAAATTCTCTGCTGAGATGGGGAGCTGGTGTGAAACTGCCCTGGCGTATGCTGCTAG	28711
sars640	ACTGGCTCCGGCTTATGCTGCTGAGCACATTGGGACACGCTTGGAGAACAGTTCCTGTAAGGCCAAC	28756
sars641	ACGAAAGTTCTGTTAGGGAACACACAAACGGCCAAACTGTCACTAGAAATTCTGCTCTGGGCA	28801
sars642	ACTAGAAATTCTGCTGAGGACATCTAAAGGCTGCCAAAACAGTACTGCCCACAAAACAGTACAACG	28846
sars643	CTGCTACGACACAAACACTACAGCTGCACTACGCAATTGGGGAGCTGGTGTGAGAACACCCAAAGGA	28891
sars644	CTGGTCCAGAACACAAACAGGAATTTCGGGGCAACAGCTATCAGAACAGGAACACTGATTAACAC	28936
sars645	ATCAGAACAGAACACTGCAACATTGGGGCAATTTCGCAATTTCGCTACAGTGTGCTCTGCTCATCT	28981
sars646	TTTCCTCCAACTGGCTCTGCAATTCTTGTAAATGTCACCTGGCATGGACTCACACCTCTGGGCCACAT	29026
sars647	ATGGAAGTCACACTTCTGGGAACTATGGCTGACTTATCATGAGGCCATTAAATTGGATGACAAAGATCAC	29071
sars648	ATTAATTGGATGACAAAGTCCACAACTTCAAAGACAAACGCTATCTGCTGAAACGACATTGAGCCAT	29116
sars649	CTGCTGACAAAGCACATTGAGGACATACAAACATTGGGCAACACAGACCTAAAGGACAAAGGACAAAAGGAAA	29161
sars650	GACCTTAAAGGACAAAGGACAAAGGACTGTTGAGCTGACGGCTTGGCGAGAACACAAAGAACAGCAG	29206
sars651	TTGGCCAGAGCACAAAGGAGCAGCCACTGTGACTCTCTCTGGCGCTGACATGGATGATTCTCCA	29251
sars652	GGGGCTGACATGATGTTCTCCAGAACACTCTAAATTCCATGAGTGGAGCTCTCTGATTCTACCTC	29296
sars653	AGTGGAGCTCTGCTGTTACCTAGGGCATAAACACTATGATGACCAACAGGAGTGGCTATGT	29341
sars654	ACACACACAAGGCAAGTGGGCTATGTAAAAGCTTCCAACTTGGCTTACGATACATGCTACTCTGTG	29386
sars655	TTACGATACATAGCTACTCTTGTGAGAATGAAATTCTGCTACTAAACAGCACAGTAGGTTAGTTAA	29431
sars656	AAACACACAAAGTAGGTTAGTTAGTTACCTTAACTCTACATGCACTTCTTAACTATGTTAAACATTAGGG	29476
sars657	CTTAAATCATGTTGACATATTGGGAGGACTGTTGAAGGACCCACATTCTACGAGGCCACCGGAGT	29521
sars658	CACTTCTCATGGGGACGGGGAGTACGACATGGCTACGTTGAAATATGCTAGGGAGAGCTGCTTATAT	29566
sars659	TAATGCTAGGGAGACGCTCCATTATGAGGAGGCCCTAAATGCTGAAATTAAATGAGTGTCTATCCCC	29611
sars660	AAATTATTTAGTAGTGTCTATCCCCATGTTAGTTTAACTGGCTTGTAGGAGAAATGCCAAAAAA	29656

另外, 选取四条烟草花叶病毒特异性探针作为阴性对照探针, 序列来源于烟草花叶病毒

基因组 (GenBank 序列号: NC_001367)。如表 2 所示:

表 2 烟草花叶病毒特异性探针序列

序号	序列	起始位点
tmv1	ATATCTTAAGTATGTCGCAAAACTTACTCCCGGGCTCTAAATAGAGGTTTACATGAAGGACTTTT	895
tmv2	TCTGCTCGGGTGTGCAATTCGTCAGATCTCAAAAGATCACCTGCTATTGACCTGAAACCGCTCAA	2220
tmv3	CTTCTTAAAGGAGTTAAAGCTTATGATAGTGTGATAAGCTGTGTTAGCGGTTGGTGTGTCACGGCGAGT	5065
tmv4	TGACAAATTGACAGCGAGGTGAGCCTGTCGTCGGACAAAGGATGGAAGAGCCACGAGGCCACT	5145

我们还选取了猪传染性胃肠炎病毒以及禽传染性气管炎病毒特异性探针序列共 12 条探针, 序列见表 3:

表 3 猪传染性胃肠炎病毒以及禽传染性气管炎病毒特异性探针序列

TGEV1	CTCTTATGGTGTGCTTCAGTTGTATTATTCGAGATGCCATGTCATGAAACATGCTATTGATGGATA
TGEV1_rc	TAATGTCATCAATAGCAGGATGTTACATGGCATTCTGCAATAAACAAACTGAAAGCACCATAAGAG
TGEV2	AGGTGTTAACACTTGACAACCAAGATCTTAAATGGCAATTCTACGATTTGGCGATTCTGTGAAGACT
TGEV2_rc	AGTCCTTCAGGAAATGGCGGAATTCGAGAAATTGCCCCAAATGCAATTAAAGATCTGGTGTCAAGCTGTATAAACACCT
TGEV3	GATAATGGTTGTTGATGGGATGGACTATCTAAAGTGTGACCGGCTTTACCTTAAATGATTAGAATGG
TGEV3_rc	CCATCTTACATCATATTAGTAAAGGACACGGTCAACACTTACGGATAGTCCATCCATCAACACATTATTC
AIBV1	AACACTAGAAATGCTCTGACTTATGGACAAACAACTTATGGCGTTGGACACATGTTGAGAA
AIBV1_rc	TTCTCAACATGTTGOCACAAACGGCATAAAACCTGGTTGTCATAACTACAGAAGCATTCTAGTGT
AIBV2	TTATGGTTGGGATTATCTAAGTGTGATAGAGCAATGCTCAATTTCCTGGCTATAACGACATCTTGTAGT
AIBV2_rc	ACTAAGGATGCTGTATACGGCAACAAATTAGGCAATGCTCTATCACACTTACGGATAATCCAAACCCATAA
AIBV3	TATTTATGTTAAACCTGGTGGCACTAGCAGTGTGCTACTACTGCTTATGCAAACAGTTTAACTAAATA
AIBV3_rc	GTTTAAAACACTGTTGCTAAAGCAGTAGTACCATCACCAGCTAGTGGCACCCAGGTTAACATAAAATA

我们还设计了针对香港公布的 CUHK-W1-S 的 SARS 全序列的特异性探针序列共 3 条探针, 序列见表 4:

表 4 CUHK-W1-S 的 SARS 的特异性探针序列

CUHK-W1-S-210	TACTTAAATCATACGTTGGCAACCCCTGTCATACCTTTAACGGATGTTA TTTATTTGCTGCCACAGAG
CUHK-W1-S-710	CCTTTTACCTGCTCAAGACATTTGGGGCACGTCAGCTCAGCTTATTGTTGCTATTAAAGCCTAAC
CUHK-W1-S-1710	ATTAGCACATTCACTTGTCTTTGGGGGTGTAAGTGTAACTACACCTG GAAACAAATGCTCATCTGAA

当然不局限于 CUHK-W1-S 的 SARS 还包括了根据其它最新公布的 SARS 序列所设计的特异性探针。

同时选取来自人基因组序列的 40-100 条寡核苷酸单个或者成组分布排列作为芯片扫描的对照。

SARS 冠状病毒 TOR2 株 660 个探针, 烟草花叶病毒 4 个探针, 猪传染性胃肠炎病毒以及禽传染性气管炎病毒 12 条探针, CUHK-W1-S 的 SARS 全序列探针序列共 3 条探针, 最后, 上述总共 679 个探针。

实施例 2 芯片点制

将上述 679 个探针约计为 680 个探针进行矩阵设计。按 679 条探针进行合成, 合成产物溶于点样缓冲液 (3×SSC), 终浓度为 800ng/ul。通过基因芯片点样仪将探针溶液点于醛基修饰的玻璃片基上, 随后在湿度为 60% 的环境中进行水合 30min, 以使探针的氨基与片基的醛基发生连接反应, 从而使探针固定于片基之上。

点制规则为每条探针重复三个点, 分为 5 个矩阵, 每个矩阵 136 条探针, 每个矩阵包括

38个阳性坐标点,形成25列×14行的点阵。如说明书附图中图1所示,图1为SARS冠状病毒全基因组芯片点样示意图,每组三联点为一条探针。图中的A所示的灰色点为阳性坐标点,B所示的黑色三联点为检测探针。

实施例3 样本处理与标记

对于可能含有SARS冠状病毒的待测样本,通过Trizol试剂应用常规方法提取总体RNA,用5'端带有特异性末端的九碱基随机引物(GTTTCCCCAGTCACGATCNNNNNNNN)进行随机反转录,然后利用特异性末端(GTTTCCCCAGTCACGATC)进行特异性扩增,在扩增的过程中掺入Cy3或Cy5标记的dCTP以使扩增产物带有荧光信号。

操作流程如下:

RT: (20ul体系),

1ul 随机引物 (GTTTCCCCAGTCACGATCNNNNNNNN, 100pmol/ul)

2ul RNA模板 (1-2ug 总体RNA)

1ul dNTP (10mM)

8ul DEPC-ddH₂O

混匀, 70℃5min, 迅速冰浴, 快速离心

加入4ul5*第一链合成Buffer

2ul0.1M DTT

1ul RNA酶抑制剂 (40U/ul)

25℃5min, 加入1ul反转录酶, 混匀, 25℃10min, 42℃1h, 70℃15min终止。

PCR: A: (20ul体系)

RT产物 1ul

10*PCR Buffer 2ul

随机引物 1ul (GTTTCCCCAGTCACGATCNNNNNNNN, 100pmol/ul)

dNTP (10mM) 0.6ul

ddH₂O 14.4ul

Taq (5U/ul) 1ul

95 5min—94 1min-30 5min-72 3min-5cycles—72 5min

B: (50ul体系)

PCR-A产物 5ul

10*PCR Buffer 5ul

特异引物 2ul (GTTTCCCCAGTCACGATC, 100pmol/ul)

dNTP (10mM) 1ul

Cy3/5-dCTP (1mM) 1ul

ddH₂O 34ul

Taq (5U/ul) 2ul

95 5min—94 50s-40 1min-50 1min-72 1min-30cycles—72 5min

实施例4 芯片杂交:

将芯片进行预处理,即分别用0.5%SDS和去离子水漂洗芯片,晾干备用。

将标记好的50ul待测样品扩增产物进行冷冻真空干燥,用1×杂交缓冲液20ul重新溶解,95℃变性5min,迅速冰浴,取20ul杂交液滴加于芯片表面,并以盖玻片覆盖,37℃温浴1小时后,分别用0.5%SDS和去离子水漂洗芯片5min,晾干后通过基因芯片扫描仪扫描芯片,并利用分析软件计算各条探针的信号值与分析阴阳性结果。

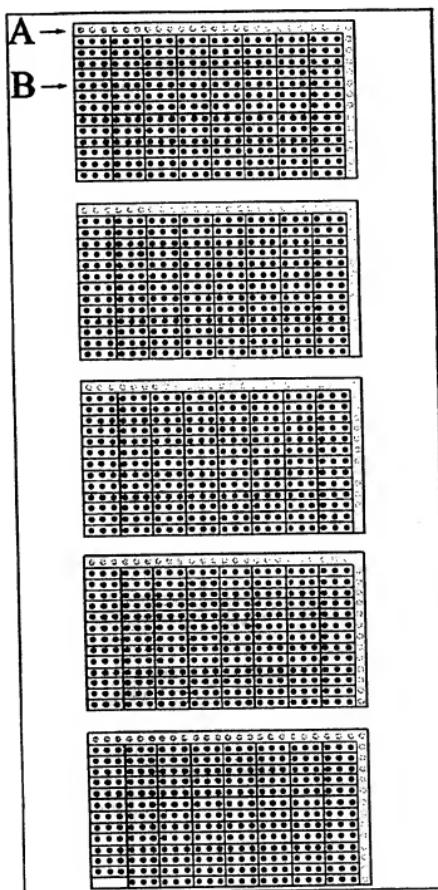
实施例5 结果分析：

经过采集 SARS 冠状病毒的标准毒株（临床病人的血清及呼吸道分泌物样品）以及其他与 SARS 冠状病毒具有同源性的冠状病毒，包括感染性支气管炎病毒（Infectious bronchitis virus）、牛冠状病毒（Bovine coronavirus）等（病毒标准品），采用正常人血清及呼吸道分泌物样品作为阴性实验对象，根据以上技术路线进行多次实验，得到实验结果为：

- 1、杂交结果中阴性对照探针均呈现阴性信号；
- 2、标准毒株杂交结果中 SARS 冠状病毒检测探针中阳性率为 83%-92%；
- 3、其他与 SARS 冠状病毒相关的冠状病毒杂交结果中 SARS 冠状病毒检测探针中阳性率为 37%-58%；
- 4、阴性实验对象杂交结果中 SARS 冠状病毒检测探针中阳性率为 1%-16%。

通过以上实验得到杂交实验结果判定标准，即在阴性探针反应呈阴性的前提下，80%以上检测探针为阳性结果时可判定待测样品带有 SARS 病毒；30%-80%检测探针为阳性结果时可判定待测样品带有与 SARS 病毒相关的病毒；30%以下检测探针为阳性结果时可判定待测样品不带有与 SARS 病毒相关的病毒。

图 1



BEST AVAILABLE COPY